

00393



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**ESTUDIO QUIMICO, BOTANICO Y
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE
DOS CULTIVARES DE
Rosmarinus officinalis L.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
(BIOLOGIA VEGETAL)**

P R E S E N T A

BIOL. MARIA GUADALUPE SANCHEZ DIRZO

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. RICARDO REYES CHILPA**

MEXICO, D. F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*De nueva cuenta A Cristina y Rafael
y por supuesto a Paḡariño, Greiz, Chiquillo, Eta, Tul y Vale.*

AGRADECIMIENTOS

Desde el primer ancestro de esta tesis, hasta la tesis misma que el lector tiene en sus manos, puedo decir que hubo una contribución inconmensurable de académicos, investigadores, agricultores, trabajadores de diversos ramos, comerciantes de plantas medicinales, para pensar, enriquecer, mejorar y concluir este trabajo. A todos ellos y ellas les debo su tiempo, sus ideas, sus sugerencias, sus conocimientos y su apoyo.

Dejo constancia que también mi agradecimiento a todos ellos y ellas es igualmente inconmensurable.

A Ricardo Reyes Chilpa por aceptar la "batuta", por sus múltiples observaciones y sugerencias durante el proceso de investigación, por sus comentarios críticos los cuales, orientaron el contenido final de este trabajo, y además porque gracias al cielo se equivocó en sus pronósticos del tiempo que tardaría en cerrar este ciclo.

A Javier Taboada Ramírez quién estuvo en el alfa y omega de esta tesis, siempre demostrandome que el camino de la ciencia puede ser acompañado con una aleccionante sonrisa, que quiere decir con alegría.

A Yolanda Caballero Arroyo por abrirme las puertas de su laboratorio y porque amablemente me ayudó a extraer el aceite esencial del romero.

A Fernando Chiang Cabrera por su minuciosa atención a este texto y por haberme proporcionado información clave para mi trabajo.

A Manuel Jiménez Estrada por estar cerca del proceso químico, apoyando de muchas formas, lo que implica conocer de qué está hecho el aroma del romero.

A Abigail Aguilar Contreras, por dos razones, la primera por lo que significa que forme parte del jurado calificador y segundo por su motivante manera de ver mi trabajo.

A Erick Estrada Lugo por sus comentarios fundamentales sobre la domesticación como proceso evolutivo determinado por la selección humana, además de proporcionarme información al respecto. También la sugerencia de nombrar los cultivos de romero y sobre todo porque el dialogo (que pareciera un artículo de lujo en estos momentos que vive la universidad) con él, siempre es aleccionante.

A Aurora Slotnick Espinosa por haberme proporcionado información sobre la anatomía de la hoja del romero "macho" y "hembra" y las fotografías de los cortes anatómicos que fueron obtenidas por Ana Isabel Bieler Antolin en el laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias.

Parte de mi trabajo fue posible gracias a Francisco Palafox Padilla. Director comercial de Essenceflauer de México, quien abrió las puertas del laboratorio de esta empresa y me proporcionó todo el equipo logístico y la asesoría de Bernardo Fajardo y Artemio Martínez Iturbide para el análisis químico del aceite esencial del romero.

A María del Carmen Gutiérrez Coutino y María Teresa Ramírez Apan del laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la UNAM por su valiosa ayuda en la realización de las pruebas antibacterianas de los aceites esenciales del romero y por su asesoría en el manejo estadístico de estas pruebas, respectivamente. También por compartir los momentos álgidos de planeación y diseño de estas pruebas.

A las siguientes personas por transmitirme otra manera de ver al romero.

En San Luis Tlaxialtemaco, Xochimilco, el señor Anastacio Medina Cruz

A las Doñas hierberas de Santa Ana Tlacotenco y del barrio de San Juan de San Pablo Oztotepec Milpa Alta Marcelina Rivera Chávez, Fidencia Flores Garibay y Virginia García.

A las Doñas hierberas del Mercado de Sonora, Guadalupe Soto, Rosa Adaya Rosales, Lidia Rosales Roldán.

A Doña Dominga y Teodoro Rosas García de San Matías Acutzingo, Edo. de México

A Doña Paula Castillo de Tepetlixpa Edo. de México
A don Bonifacio Aguilar de Purificación, Texcoco, Edo, de México

No podían faltar de ninguna manera mis compañeritos Eduardo, Dagoberto, Arturo, Elizabeth y Daniel por ganarse a pulso un espacio en mi trabajo.

A José Trinidad y a Osvaldo por su apoyo en las lides computacionales.

a David Pérez Ortega por su dibujo del equipo de arrastre de vapor.

A Joaquín Pérez Ruelas. Coordinador del laboratorio de tecnología farmacéutica de la Fac. Química UNAM, por haberme proporcionado el equipo para medir el índice de refracción en las muestras del aceite esencial del romero.

A Lourdes Olivera Martínez por su asesoría en el estudio de los granos de polen, por proporcionarme las laminillas de polen y facilitarme el equipo necesario para su observación, análisis y fotografía.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su apoyo en la realización de este proyecto.

El interés de estudiar el romero *Rosmarinus officinalis* L. que crece en México surgió paradójicamente del conocimiento y desconocimiento que se tiene de esta especie. Dos pláticas sostenidas en dos diferentes contextos fueron decisivas: en el jardín botánico de la UNAM, el maestro Miguel Angel Martínez Alfaro comentaba la ausencia de estudios sobre esta planta en México, y en las Chinampas de San Luis Tlaxialtemaco, Xochimilco, el señor Anastasio Medina Cruz propagaba dos cultivares de romero, platicaba cómo son llamadas y cómo las reconocía. Durante varios años el romero siguió merodeando de manera intermitente en pláticas informales con productores y comerciantes de plantas medicinales y herbolarios. Poco a poco fui conociendo los criterios que usan para distinguirlas y curiosamente, la diferenciación de las dos plantas se reveló muy sutil a través de peculiaridades que pueden resultar imperceptibles. No todos los comerciantes y herbolarios consultados las reconocen. Sin embargo, cuando el romero es clasificado en dos tipos, en cierto modo se está comunicando el estado de conocimiento empírico que se tiene de esta planta. Así que, una vez detectadas estas dos entidades, intenté decifrar con métodos botánicos, químicos y farmacológicos. Si estas plantas, en el sentido común son diferentes habría que caracterizarlas con las herramientas de la ciencia, en un intento de confrontar/contrastar percepciones y de conocer sus cualidades.

De modo que el antecedente del presente estudio fue la información a viva voz de agricultores y comerciantes de plantas medicinales de algunos municipios del Edo de México, Puebla, del mercado de Sonora y de las chinampas de San Luis Tlaxialtemaco, Xochimilco, D. F., sobre la forma, el aroma y las propiedades de los dos romeros que ellos perciben para diferenciarlos. Tomo en cuenta estos atributos para desarrollar la presente investigación en dos partes: Botánica y Química.

En la parte botánica, el tamaño de las estructuras vegetativas y reproductivas de los dos romeros son evaluadas y analizadas estadísticamente, pues el ancho de la hoja es uno de los criterios que usan para diferenciar las dos plantas. En la parte química los compuestos terpenoides volátiles, responsables del aroma de las plantas, son identificados del aceite esencial de los dos cultivares. Este aceite fue analizado y evaluado en su actividad antibacteriana, pues el aroma y las propiedades medicinales de las plantas son también criterios para la diferenciación.

También se abordaron algunos aspectos que me pareció necesario incluirlos, como son la información ambiental, ecológica y etnobotánica del romero, para su mejor ubicación en el contexto natural y cultural, puesto que son los dos universos que envuelven a las plantas medicinales.

Finalmente, en el dominio de las cifras de interés económico el aceite esencial de romero ocupa el octavo lugar de producción a nivel mundial. En México, la

importación de aceites esenciales ocupa el vigésimo lugar entre los productos que generan la salida de divisas. Por ello la producción de romero, además de su importancia medicinal dentro de un plan nacional de salud, es un recurso viable para la industria como materia básica en la elaboración de perfumes, en medicinas alternativas como la aromaterapia, como recurso económico para los productores de plantas medicinales y aromáticas. Además, podría ser incluido como parte de una estrategia ecológica en la conservación de suelo como cubierta vegetal y en el control de plagas y arvenses por sus propiedades aleloquímicas.

Así, un mejor entendimiento sobre el romero incluye necesariamente los conocimientos científico y popular/tradicional de esta planta. En este sentido, el presente trabajo intenta proyectar la retroalimentación de estos conocimientos para enfocar al romero desde los diferentes ángulos con que se le mira.

ÍNDICE

ÍNDICE DE MAPA, TABLAS, CUADROS Y FIGURAS.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN 1

OBJETIVO GENERAL 3

OBJETIVOS PARTICULARES 3

HIPÓTESIS 3

MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN 4

ZONA DE ESTUDIO

I. BOTÁNICA

ASPECTOS TAXONÓMICOS, MORFOLÓGICOS Y
ETNOBOTÁNICOS DE *Rosmarinus officinalis* L. 6

I. 1. La Familia Lamiaceae (Labiatae). 6

I. 2. Situación Taxonómica de *Rosmarinus officinalis* L. 7

I. 3. Descripción. 13

I. 4. Atributos, Usos y Nombres Populares del romero en el mundo. 15

I. 5. El Romero en México. 16

Etnobotánica. 16

Caracterización popular de los cultivares "macho" y "hembra". 23

Distribución, tipos de vegetación, hábitat y cultivo. 25

Aspectos anatómicos L. 27

MÉTODO 29

I. 6. Caracteres morfológicos de los romeros "macho" y "hembra". 29

I. 7. Granos de Polen de los romeros "macho" y "hembra". 30

I. 8. Análisis estadístico de la variabilidad de caracteres morfológicos del romero "macho" y "hembra". 30

RESULTADOS 32

I. 9. Descripción de los Romero "macho" y "hembra". 32

I. 10. Caracteres morfológicos. 35

I. 11. Fenología y sexualidad. 37

I. 12. Descripción del Polen de los cultivares "macho" y "hembra". 38

II. QUÍMICA

TERPENOS DE *Rosmarinus officinalis* L. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA. 43

- II. 1. Aceites esenciales o volátiles. 43
- II. 2. Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. 45
- II. 2.3. Extracción. 46
- II. 2.4. Técnica *headspace*. 46
- II. 2.5. Propiedades fisicoquímicas. 47
- II. 2.6. Composición Química. 48
- II. 2.7. Cualidades sensoriales. 49
- II. 2.8. Propiedades Farmacológicas. Actividad antimicrobiana. 50

MÉTODO 54

- II. 3. Extracción de los aceites esenciales mediante arrastre de vapor de agua. 55
- II. 4. Análisis de aceites esenciales por la técnica *headspace*. 57
- II. 5. Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de masas (CG/MS). 57
- II. 6 . Constituyentes químicos. 59
- II. 7 . Descripción de las propiedades organolépticas. 59
- II. 8 . Análisis Fisicoquímicos de los aceites esenciales. 59
- II. 9 . Actividad antibacteriana. 60

RESULTADOS 61

- II. 10 . Rendimiento, color y descripción organoléptica. 61
- II. 11 . Propiedades Fisicoquímicas. 62
- II. 12 . Composición y concentración de los aceites esenciales de los romeros "macho" y "hembra". Análisis por (CG/MS). 62
- II. 13 . Análisis, extracción por Arrastre de Vapor. 66
- II. 14 . Análisis *headspace*. 70
- II. 15 . Descripción cuantitativa por clases químicas de compuestos. 71
- II. 16 . Pruebas antibacterianas. 74

III. DISCUSIÓN 75

IV. CONCLUSIONES 89

V. REFERENCIAS 91

VI. ANEXO 103

INDICE DE MAPA, CUADROS, TABLAS, FIGURAS Y GRAFICAS.

MAPA 1 Localización geográfica del área de estudio

Diseño Experimental

CUADROS

Cuadro 1. Táxones específicos e infraespecíficos del género *Rosmarinus*. 9

Cuadro 2. Cultivares de *R. officinalis* L. 10

Cuadro 3. Características y propiedades distintivas en la taxonomía popular del romero 24

Cuadro 4. Distribución de *R. officinalis* L. en México. 26

Cuadro 5. Químiotipos reconocidos para el romero. 45

TABLAS

Tabla 1. Información etnobotánica sobre los usos medicinales y modo de preparación de *R. officinalis* L. en México. 18

Tabla 2. Caracteres morfológicos evaluados de los cultivares de romero "M" y "H". 32

Tabla 3. Análisis discriminante, contribución independiente de cada variable en el modelo y su importancia relativa para la discriminación de las poblaciones. 35

Tabla 4. Análisis de varianza de los caracteres estudiados de los cultivares de Romero "M" y "H". 37

Tabla 5. Fenología de los cultivares "M" y "H" en San Pablo Oztotepec, Milpa Alta, D.F. 38

Tabla 6. Tamaño de las flores con estambres disfuncionales de los romeros "M" y "H". 38

Tabla 7. Análisis discriminante y contribución independiente de cada variable en el modelo. Polen 39

Tabla 8. Análisis de varianza para los caracteres relacionados con las dimensiones del polen. 41

Tabla 9. Composición química comparativa del aceite esencial de *R. officinalis* L. en diversos países de Europa y América. 46

Tabla 10. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de *R. officinalis* L. de diferentes orígenes. 48

Tabla 11. Descripción cualitativa del aceite esencial del romero Español. 49

Tabla 12. Propiedades medicinales y antimicrobianas de algunos constituyentes del aceite esencial de *R. officinalis* L. 51

Tabla 13. Resumen del número de colectas, parte de la planta utilizada, periodo fenológico y número de muestras. 54

- Tabla 14. Percepción olfativa del aceite esencial de los romeros "M" y "H" de una muestra de 20 personas. 61
- Tabla 15. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de los romeros "M" y "H". 62
- Tabla 16. Componentes identificados y su abundancia (% del total) en los aceites esenciales de los romeros "M" y "H" durante la floración. 63
- Tabla 17. Componentes identificados y su abundancia (% del total) en los aceites esenciales de los romeros "M" y "H" al final de la floración (3ª colecta) y con material seco de la 2ª colecta. 64
- Tabla 18. Componentes identificados y su abundancia (% del total) en los aceites esenciales de los romeros "M" y "H" obtenidos con el método *headspace*. 65
- Tabla 19. Análisis cuantitativo de los aceites esenciales por clases químicas de compuestos. 72
- Tabla 20. Análisis cuantitativo de los aceites esenciales por clases químicas de compuestos, al inicio y final de la floración. 72
- Tabla 21. Análisis cuantitativo de los aceites esenciales por clases químicas de compuestos, con materiales fresco y seco. 73
- Tabla 22. Resultados de las pruebas de antibiosis efectuadas con los aceites esenciales de los romeros "M" y "H". Tamaño de los halos de inhibición (mm). 74
- Tabla 23. Caracterización cuantitativa y cualitativa de los romeros "H" y "M". 80
- Tabla 24. Comparación del porcentaje de concentración por clases de compuestos químicos del aceite esencial de los cultivares de romero Joyce De Baggio, "M" y "H". 85

FIGURAS

- Fig. 1. *Rosmarinus officinalis* Linnaeus. 14
- Fig. 2. Cortes transversales de las hojas de *R. officinalis* L. Cultivares "M" y "H". 28
- Fig. 3. Renuevos de tallo de los cultivares "H" y "M". 32
- Fig. 4. Cultivar del romero "H". 33
- Fig. 5. Cultivar del romero "M". 34
- Fig. 6. Granos de polen de *R. officinalis* L. Cultivares "M" y "H". 40
- Fig. 7. Equipo empleado para la extracción de los aceites esenciales de los cultivares "H" y "M" de *R. officinalis* L. 56
- Fig. 8. Cultivares de romero "H" y "M". 76
- Fig. 9. Origen probable de los romeros "H" y "M". 84

GRAFICAS

Gráfica 1 Medias y desviación estándar de los caracteres morfológicos de *Rosmarinus officinalis* 36

Gráfica 2. Medias y desviación estándar de los caracteres morfológicos evaluados en polen. 42

Gráfica 3 Constituyentes mayoritarios del aceite esencial de los cultivares romeros "M" y "H". Método Arrastre de Vapor. 66

Gráfica 4. Constituyentes químicos del aceite esencial de los romeros "M" y "H" con alta diferencia significativa. 69

Gráfica 5. Constituyentes mayoritarios del aceite esencial de los cultivares romeros "M" y "H". Método *headspace*.70

ANEXO

Cromatograma de *Rosmarinus officinalis* L. a) cultivar "hembra". b) cultivar "macho". Arrastre de Vapor. Planta piloto. 108 y 109

Cromatograma de *Rosmarinus officinalis* L. a) cultivar "hembra". b) cultivar "macho". Arrastre de Vapor. Laboratorio. 106 y 107

Cromatograma de *Rosmarinus officinalis* L. a) cultivar "hembra" b) cultivar "macho". Técnica *headspace*. 104 y 105

Espectros de masa de *Rosmarinus officinalis* L. 111

Separación de los componentes 1,8 cineole y β -phellandrene, en las muestras de la primera colecta de los cultivares "M" y "H" de *Rosmarinus officinalis* L. 110

RESUMEN

Rosmarinus officinalis L. es una planta de origen Mediterráneo introducida en México, ampliamente utilizada en la medicina tradicional. Se propaga y está adaptada a diversos hábitats de considerable distribución en el país. En el conocimiento popular se reconocen por su olor, color, forma y propiedades dos cultivares de esta especie que se denominan Romero "macho" y Romero "hembra". De acuerdo con la clasificación de Turrill (1920), ambos cultivares se determinaron como *R. officinalis* L. variedad *genuina*. En el presente trabajo se examinaron las diferencias y similitudes de los dos cultivares, con la finalidad de corroborar la percepción popular con métodos botánicos, químicos y farmacológicos para caracterizarlos. Se realizaron estudios comparativos de la morfología de la flor, hojas y polen, así como de sus aceites esenciales y su actividad antibacteriana. La variabilidad morfológica y química de ambos romeros se examinó estadísticamente aplicando análisis de varianza y el método multivariado: análisis discriminante, este último para el caso de los caracteres morfológicos. La variación morfológica más significativa ($p < 0.05$) de los dos cultivares se encontró en la longitud del estilo y en el ancho de las hojas. El aceite esencial se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor y técnica *headspace*, y se analizó por cromatografía de gases-espectrometría de masas. Se identificaron veinticinco terpenoides. Los aceites esenciales de ambos romeros son de tipo eucaliptol de acuerdo con la clasificación de Granger (1973). Ambos cultivares presentaron similitud en los constituyentes de sus aceites esenciales, siendo los mayoritarios: 1,8 cineole/camphor/ α -pinene. Sin embargo el myrcene fue mayoritario sólo en el romero "hembra". Las concentraciones de camphor y 1,8 cineole fueron más altas en el romero "macho". Estas diferencias fueron significativas ($p < 0.05$) y pueden apreciarse olfativamente. Por clases químicas de compuestos, los monoterpenos, ésteres y sesquiterpenos son más abundantes en el aceite del romero "hembra", mientras que los alcoholes, cetonas y éteres son más abundantes en el aceite del romero "macho". La actividad antibacteriana se probó mediante el método de difusión de disco. El aceite esencial del romero "macho" presentó una mayor inhibición ($p < 0.05$) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; mientras que el aceite esencial del romero "hembra" presentó mayor inhibición ($p < 0.05$) sobre *Mycobacterium smegmatis*. En suma, los cultivares "macho" y "hembra" presentan diferencias cuantitativas en la composición química y propiedades bacteriostáticas de sus aceites esenciales, así como en la longitud del estilo y ancho de la hoja. Estos resultados apoyan el reconocimiento de dos cultivares del romero en la clasificación popular.

La percepción, sin comprobación, ni fundamento, no es garantía suficiente de la verdad. Bertrand Russell. Misticismo y lógica (1929)

Rosmarinus officinalis L, al igual que otras especies de géneros europeos como el *Marrubium*, el *Origanum*, fue introducido a México durante el periodo Colonial. El romero, así llamado comúnmente, forma parte de la nueva herbolaria mexicana [71], es una de las plantas medicinales con mayor difusión y uso en el país y configura en el cuadro básico de recursos herbolarios en el grupo de plantas con propiedades broncodilatadoras y antimicrobianas [123]. Se cultiva y presenta una gran versatilidad de adaptación y una amplia distribución en México.

Taxonómicamente el romero es identificado como una sola especie *R. officinalis*. Sin embargo, productores, algunos comerciantes de plantas medicinales y herbolarios distinguen dos tipos diferentes en olor, color, forma y propiedades. Los dos cultivares reconocidos popularmente son denominados como romero "macho" y romero "hembra".

Tenemos así dos clasificaciones del romero: una clasificación científica con una sola especie y una clasificación popular que identifica dos tipos. De acuerdo con el enfoque etnobotánico propuesto por Berlin *et al.* (1966) se habla de una "sobrediferenciación", esto es, a un sólo nombre científico le corresponden dos o más nombres populares *[32]; lo cual refleja los diferentes niveles de percepción y de las necesidades que cubren estas entidades. Es entonces cuando se da la posibilidad de comparar lo que otros ven, confrontando otras formas de conocimiento no occidental con respecto a las ciencias biológicas [93].

* Berlin *et al.* (1966) en su estudio de la taxonomía tradicional botánica de los Tzeltales reconocen una similitud en los sistemas de clasificación científica y los sistemas tradicionales de esta cultura, encuentran una correspondencia entre la diferenciación léxica y significancia cultural, y proponen una división de la especificación Tzeltal en tres categorías que a su vez connotan una baja, moderada y alta significancia cultural:

La primera categoría se refiere a una subdiferenciación/baja significancia cultural; esto es un nombre específico Tzeltal incluye dos o más especies botánicas.

La segunda categoría incluye la correspondencia uno a uno/moderada significancia cultural; un nombre Tzeltal corresponde a un nombre botánico.

La tercera categoría se refiere a una sobrediferenciación/alta significancia cultural; dos o más nombres específicos Tzeltales corresponden a un solo nombre botánico. En esta última categoría se encuentran generalmente plantas intensivamente cultivadas [32].

La clasificación de las plantas siempre ha sido una prioridad dentro de los grupos humanos que interaccionan con este recurso. Actualmente el proceso de clasificación biológica se ha enriquecido por los conocimientos en ecología, biología molecular, genética, bioquímica, morfología. Las nuevas técnicas de experimentación y observación, las herramientas que hacen eficiente el manejo de la información recabada, han permitido reconocer variados y complejos caracteres y propiedades de las plantas.

Así mismo, el estudio químico de las plantas por medio de técnicas e instrumentación sofisticada, ha producido una enorme cantidad de datos potencialmente útiles para su conocimiento sistemático. Dentro de los grupos de sustancias que han sido estudiadas con fines taxonómicos se encuentran: los compuestos fenólicos, los alcaloides, los terpenoides, los glucosinolatos y los aminoácidos [30,65].

Ante este panorama de confluencia de aportaciones de las distintas disciplinas a la taxonomía, se suma el conocimiento etnobotánico que es de gran trascendencia: si bien las plantas han sido clasificadas con respecto a sus estructuras, funciones y propiedades también lo han sido en cuanto a sus usos y necesidades. De modo que en los sistemas taxonómicos tradicionales también llamados folk, las propiedades químicas y físicas de las plantas han sido reconocidas por el hombre para distinguir sus cualidades: sabores, olores y colores, además de la forma, tamaño de las plantas y su semejanza con objetos [33,45,66]. En estos sistemas la percepción es un concepto importante para explicar las clasificaciones biológicas tradicionales [93].

La variación en las categorías infraespecíficas de las plantas medicinales, ha sido detectada y enunciada, tanto en los sistemas de clasificación científica y folk*. En ambos sistemas de clasificación el observador se centra en las características esenciales de la planta en relación a su perspectiva. Es por esto que cabe preguntarse ¿estamos hablando de una misma entidad morfológica y química cuando señalamos los romeros "macho" y "hembra"? y ¿Si las diferencias con que los productores, herbolarios y comerciantes del romero reconocen una planta de otra pueden ser caracterizadas química y botánicamente?

*Por ejemplo, los Sibundoy de Colombia reconocen nueve cultivares de *Datura candida* (Personn) Sattord, a los que se le atribuyen diferentes propiedades medicinales (Bristol, 1969 *cit. in.* [66]). En la taxonomía científica se ha investigado la variación infraespecífica principalmente con plantas medicinales europeas. Un ejemplo lo constituye el tomillo (*Thymus vulgaris*) que crece de manera silvestre y cultivada. De esta especie se reconocen 7 quimiotipos, los cuales presentan diferentes grados en su propiedad antiséptica [9].

OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio comparativo de la morfología, aceites volátiles (monoterpenos y sesquiterpenos) y actividad antimicrobiana de dos cultivares de *Rosmarinus officinalis* L. reconocidos popularmente como romero "macho" y romero "hembra", con la finalidad de determinar si son dos entidades taxonómicas distintas e identificar científicamente los criterios de la clasificación popular.

OBJETIVOS PARTICULARES.

Determinar y comparar la morfología de las estructuras reproductivas, hojas y polen de los romeros "macho" y "hembra".

Determinar y comparar las propiedades fisicoquímicas y organolépticas.

Identificar y comparar los componentes de los aceites esenciales de los romeros "macho" y "hembra" por método de extracción y preparación de la muestra; en periodo de floración, al final de la floración, con material vegetal seco y fresco y por clases químicas de compuestos.

Evaluar la actividad bacteriostática de los aceites esenciales de los romeros "macho" y "hembra" en bacterias Gram⁺ (*Escherichia coli*), Gram⁻ (*Staphylococcus aureus*) y Acido resistentes (*Mycobacterium smegmatis*).

Analizar mediante métodos estadísticos (análisis discriminante y de varianza) las diferencias morfológicas, químicas y antibacterianas de los dos cultivares .

Realizar una revisión bibliográfica (hemerográfica e Internet), así como de los ejemplares de herbario de la especie *Rosmarinus officinalis* L. en especial sobre su situación taxonómica, su uso a nivel mundial, etnobotánica, hábitats, tipos de vegetación donde se desarrolla y su distribución en México.

Efectuar visitas a mercados y lugares donde cultivan el romero para seleccionar el material botánico de estudio.

HIPÓTESIS

Los cultivares de *Rosmarinus officinalis* L. reconocidos popularmente como romero "macho" y romero "hembra" deben poseer diferencias en morfología, composición cuantitativa y cualitativa de aceites volátiles (monoterpenos y sesquiterpenos) y presentar diferencias en su actividad antibiótica.

Puesto que por lo general en los mercados se encuentra en mayor disponibilidad el romero "macho" por considerarsele "más efectivo" desde el punto de vista medicinal (baños, limpiezas, vaporización), y de olor más fuerte se puede esperar que éste presente diferencias principalmente de tipo químico y antibiótico.

MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

1. La comparación morfológica de los romeros "macho" y "hembra" se efectuó, evaluando caracteres morfológicos de las estructuras reproductivas y vegetativas de ambos cultivares. Los granos de polen se procesaron con la técnica de Erdtman(1960) [110] en el laboratorio de Paleobotánica del Instituto de Investigaciones Antropológicas UNAM. Se aplicó un análisis discriminante y de varianza para probar la hipótesis antes mencionada. En la realización de ambos análisis se empleó el programa STATISTICA versión 5.1. Un mayor detalle del método se especifica en la parte Botánica

2. Se determinaron y compararon las siguientes propiedades de los aceites esenciales de los romeros "macho" y "hembra": rendimiento, propiedades organolépticas y propiedades fisicoquímicas. La extracción de los aceites esenciales fue llevada a cabo con el método de Arrastre de vapor (Planta piloto del Instituto de Química de la UNAM y en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Química de la UNAM). Las plantas de romero se estudiaron también con la técnica de *headspace* en la empresa Essencefleur México S.A. de C.V. Para la separación de los componentes de los aceites esenciales se utilizó cromatografía de gases. La identificación de los compuestos se realizó con un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Los compuestos serán nombrados en su acepción anglosajona. Las pruebas antibacterianas se realizaron con el método de difusión de disco en el laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la UNAM. Se aplicó un análisis de varianza empleando el programa STATISTICA versión 5.1. Un mayor detalle del método se especifica en la parte Química.

Las colectas del material botánico para el estudio morfológico y químico se realizaron en el terreno agrícola denominado "Tectliquiahuac" ubicado en la esquina de camino viejo a Xochimilco y la Calle Cuahutzin en San Pablo Oztotepec, Milpa Alta D.F. (Area de estudio. Mapa 1).

3. La revisión de los ejemplares de herbario fue realizada en los herbarios del Instituto de Biología UNAM (MEXU), del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSSM) y el de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas de IPN (ENCB). La información recopilada de las fichas de herbario fue la siguiente: lugar de colecta, hábitat, tipo de vegetación, características morfológicas y uso.

4. Se hizo una revisión bibliográfica (hemerográfica, Internet), tesis y trabajos etnobotánicos que hicieran mención sobre *R. officinalis*. Particularmente la búsqueda de información se enfocó a aspectos tales como nomenclatura, clasificación científica y tradicional, usos, propiedades medicinales y composición química de los aceites esenciales.

5. Se realizaron visitas a los mercados y lugares donde cultivan los romeros para seleccionar el material botánico de estudio. Este material debía ser el

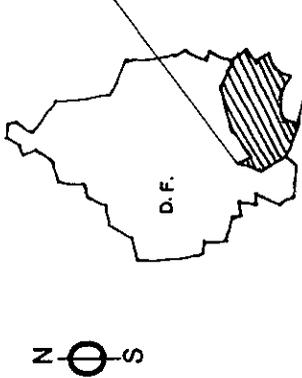
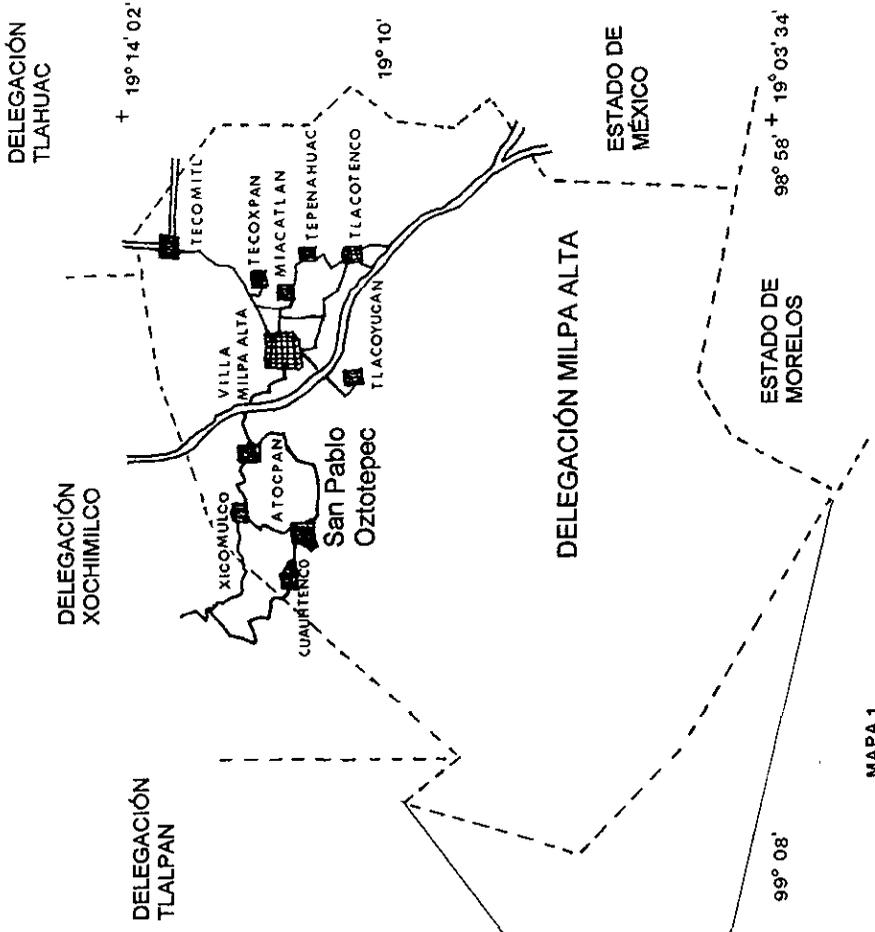
mismo para los estudios morfológicos y químicos. Los mercados visitados fueron: Sonora, Sector Popular, Col. del Valle en el D.F.; Cuetzálan, Puebla; Ozumba, edo. México. Los lugares visitados donde cultivan el romero: Purificación, Texcoco; Tepetlixpa, Ozumba en el Edo. de México, San Luis Tlaxialtemaco en Xochimilco, D.F. *

De aquí en adelante a los romeros "macho" y "hembra" se le designará como romero "M" y romero "H" respectivamente.

*Cabe mencionar que estas visitas confirmaron una mayor comercialización del romero "M". Generalmente había manojos de romero "M" y sobre pedido se obtenía el romero "H". Cuando se encontraban los dos romeros provenían de diferentes sitios, o bien se desconocía la procedencia. Lo cual abría la posibilidad de encontrar diferencias por tratarse de individuos ecotípicos, cuya variabilidad pudiera ser debido a factores ambientales. En los lugares donde cultivan el romero, en el Edo. de México solo se encontraron cultivos de romero "M", aunque esporádicamente había plantas de romero "H" de diferente edad o en diferente lugar donde se encontraba el romero "M". En San Luis Tlaxialtemaco, Xochimilco, cultivan los dos romeros para su comercialización, sin embargo, los cultivos no rebasan los seis meses de edad. Se optó finalmente por las poblaciones de romero localizadas en San Pablo Oztotepec, Milpa Alta, D.F., por estar conformadas por individuos de la misma edad y mismas condiciones ambientales.

LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DEL ÁREA DE ESTUDIO

San Pablo Oztotepec es uno de los 9 pueblos comuneros de Milpa Alta. Se localiza en las coordenadas 19° 12' LN y 99° 04' LW a una elevación de 2350m. El clima es templado subhúmedo C(W2)(W) con una temperatura promedio anual de 15.9°C, una temperatura máxima extrema de 32.5°C y una mínima extrema de -0.5°C. En promedio la precipitación media anual es de 800 mm. Los vientos dominantes son en dirección noroeste-suroeste, cambiando en invierno de sur a norte [10]. El suelo es montañoso de origen volcánico, de tipo Feozem, lítico profundo (lecho rocoso entre 50 y 100 cm de profundidad), ligeramente ácido y de textura migajón-limoso [102].



Fuente: D. D. F. Milpa Alta.

MAPA 1

I. BOTÁNICA

ASPECTOS TAXONÓMICOS, MORFOLÓGICOS Y ETNOBOTÁNICOS DE *Rosmarinus officinalis* L.

División: Anthophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae
Subfamilia: Nepetoideae
Tribu: Mentheae
Género: *Rosmarinus*
Especie: *Rosmarinus officinalis* L. *[18]

I.1 La Familia Lamiaceae (Labiatae).

Presenta una distribución cosmopolita e incluye cerca de 250 géneros y aproximadamente 7,000 especies (Thorne, 1992, *cit. in.* [18]). Comprende plantas herbáceas y arbustivas con tallos cuadrangulares, hojas opuestas e inflorescencia en racimos o espigas verticiladas, está caracterizada por una corola bilabiada, una placenta intrusiva que se divide al madurar el ovario en 4 nuececillas, estilo ginobásico y glándulas conteniendo terpenos que se encuentran en las células epidérmicas [70]. Un rasgo notable en más de 124 especies de labiadas, entre las que se encuentra el romero, es la alta proporción de individuos con estructuras androestériles, estas especies son descritas como ginodioicas [27], las cuales consisten de individuos con flores hermafroditas y flores femeninas [26].

Actualmente se reconocen 8 subfamilias, la subfamilia Nepetoideae es la más grande y la que tiene una mayor importancia económica ya que incluye muchas hierbas aromáticas como las mentas, orégano, tomillo y al romero, entre otras. Esta subfamilia está caracterizada por tener polen hexacolpado, semillas sin albúmina con un embrión envuelto, ausencia de glicósidos iridoides, producción de ácido rosmarínico, un alto contenido de terpenoides volátiles, aceites insaturados en las semillas y frecuentemente un pericarpo mucilaginoso [18].

* Existen dos versiones sobre el origen de la palabra *Rosmarinus*: del latín *ros-marinus* significa rocío de mar, *roris*=rocío; *marinus*=mar [1], en alusión a que vive en zonas calizas próximas al mar; en griego *rhaps* significa arbusto y *myrimos* quiere decir oloroso [14]. El nombre específico *officinalis* se refiere a sus numerosas aplicaciones medicinales [14].

I.2. Situación Taxonómica de *Rosmarinus officinalis* L.

Linneo (Sp. Pl. 1:23. 1753) [31] describió *R.officinalis* confiriendo en esta sola especie la diversidad de la categoría genérica. Posteriormente, diversos autores se han ocupado del estudio del género *Rosmarinus*, al que le atribuyen una serie de táxones cuya validez actualmente ha sido puesta a discusión [16]. También las categorías infraespecíficas de *R. officinalis* L. son objeto de diversas interpretaciones [4,16]. Para una visión histórica de la taxonomía del género puede consultarse el trabajo de Rosúa (1986) [16].

Turrill (1920), publicó una revisión del género *Rosmarinus* basada principalmente en el material de herbario de Kew, reconociendo cuatro especies del género *Rosmarinus*: *R. officinalis* L.; *R. laxiflorus* De Noé; *R. lavandulaceus* De Noé; *R. tournefortii* De Noé (Arab Khilil), y 5 variedades de la especie *R. officinalis* var. *genuina* Turrill; forma *erectus* Pasq.; forma *humilis* Ten; forma *albiflorus* Beg.; var. *rigidus* Car et Snt. Lag; var. *augustifolius* Guss; var. *latifolius* Beg.; var. *pubescens* Pamp. [76].

Estas últimas categorías infraespecíficas son vigentes para autores como F. Delitala y F. Soccolini (1980) quienes hicieron una revisión de estos táxones (cuadro 1). Ellos consideran a *R. officinalis* la única especie del género, sin embargo, la clasificación de las variedades y formas continúa inconclusa [4]. También autores como Tucker y Maciarelo (1986) admiten los táxones propuestos por Turrill *op cit.* para determinar los cultivares de Norteamérica, Canadá e Inglaterra [60] y los táxones propuestos en la Flora Europaea [15] en la que se reconocen dos especies para el género *Rosmarinus* : *R. officinalis* L. y *R. eriocalyx* Jordan&Fourr, la distribución de la segunda se restringe al sur de España y norte de África [15].

Rosúa, J. L. estudió el género *Rosmarinus* bajo diversos enfoques: morfológico Rosúa (1981) [75], cariológico, Rosúa (1985) [17] y químico (terpenoides) Rosúa (1987) [85] y admitió para el Mediterráneo Occidental los siguientes táxones: *R. officinalis* L., *R. eriocalyx* Jordan & Fourr, y *R. tomentosus* Hubert-Morath&Maire [16]. Propone los tricomas glandulares como el principal carácter morfológico para separar el complejo *R. eriocalyx-tomentosus* del grupo *officinalis* [75]. En el estudio cariológico *op. cit.* obtiene el número cromosómico $2n=24$ para las 3 especies y menciona que los cariotipos de *R. eriocalyx* y *R. tomentosus* están más próximos entre sí que respecto a *R. officinalis*.

Otros taxones admitidos por Rosúa (1986) son *R. x mendizabalii* Sagredo ex Rosúa, un híbrido de *R. officinalis* y *R. tomentosus* y *R. x lavandulaceus* De Noé, un híbrido entre *R. officinalis* y *R. eriocalyx* ; a este híbrido le reconoció 5 variedades: *lavandulaceus* (De Noé) Batt&Trabut, *noeanus* (Maire) Rosúa, *trogloeditarum* (Maire&Weiller) Rosúa, *subtomentosus* (Maire&Weiller) Rosúa y *clementei* (cuadro 1). Excluye los táxones infraespecíficos para la

especie *R. officinalis*, pues considera que por su amplia distribución mediterránea, esta especie "presenta distintas formas que son producidas como consecuencia de su alta capacidad para adaptarse a áreas de condiciones ecológicas muy variables" [16].

Por consiguiente, descarta los táxones infraespecíficos admitidos por Turrill (cuadro 1), "porque se basan en caracteres con escaso valor taxonómico y pueden incluirse dentro del margen de variabilidad de *R. officinalis*" [16].

Al comparar los sistemas de clasificación propuestos por los autores antes mencionados (cuadro 1) podemos observar que el punto de controversia sobre la discusión de *R. officinalis* L. se polariza hacia el reconocimiento de las variedades de esta especie.

Ahora bien, un elemento que no se puede soslayar en el sistema de clasificación de *R. officinalis* es su estatus de cultivo, con una amplia distribución geográfica, propiciada por las variedades y formas que han sido introducidas a otras partes del mundo; estas se han propagado dando origen a los cultivares. De acuerdo con el Código Internacional de Nomenclatura de Plantas Cultivadas (ICNCP) un cultivar es un taxón que ha sido seleccionado por uno o más atributos particulares, es distinguible, uniforme y estable en sus características, las cuales permanecen después de propagarlas [145]. El cuadro 2 muestra una recopilación de algunos de estos que actualmente se reconocen en la horticultura.

Cabe destacar que en el presente trabajo se ha tomado como base el sistema de clasificación de Turrill (1920) [76] para las categorías infraespecíficas de *R. officinalis*.

Cuadro 1. Táxones Específicos e Infraespecíficos del género *Rosmarinus*

Turrill (1920) [76]	Flora Europaea (1972) [15]
<p>1. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.</p> <p>var. <i>genuina</i> Turrill forma <i>erectus</i> Pasq. ex Bég. forma <i>humilis</i> Ten. forma <i>albiflorus</i> Bég.</p> <p>var. <i>rigidus</i> Car. et Saint-Lag. var. <i>angustifolius</i> Guss. var. <i>latifolius</i> Beg. var. <i>pubescens</i> Pamp.</p> <p>2. <i>Rosmarinus laxiflorus</i> De Noé</p> <p>3. <i>Rosmarinus lavandulaceus</i> De Noé</p> <p>4. <i>Rosmarinus tournefortii</i> De Noé ex Batt. & Trabut</p>	<p>1. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.</p> <p>2. <i>R. eriocalyx</i> Jordan&Fourr.</p>
<p>Falchi Delitala and Soccolini (1981) [4]</p> <p>1. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.</p> <p>var. <i>genuina</i>, forma <i>typica</i> Turrill forma <i>erectus</i> Pasq. forma <i>humilis</i> Ten. forma <i>albiflorus</i> Beg.</p> <p>var. <i>rigidus</i> Car. et S. Lag.</p> <p>var. <i>angustifolius</i> Guss.</p> <p>var. <i>latifolius</i> Beg.</p> <p>var. <i>pubescens</i> Pamp. forma <i>typica</i> Pamp. forma <i>roseus</i> Pamp.</p>	<p>Rosúa, J.L. (1986) [16]</p> <p>1. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.</p> <p>2. <i>R. eriocalyx</i> Jordan&Fourr.</p> <p>3. <i>R. tomentosus</i> Hubertç Morath&Maire</p> <p><i>R x mendizabalii</i> Sagredo ex Rosúa</p> <p><i>R. x lavandulaceus</i>, var. <i>lavandulaceus</i> (De Noé) Batt&Trabut. var. <i>noeanus</i> (Maire) Rosúa, var. <i>trogloeditarum</i> (Maire&Weiller) Rosúa var. <i>subtomentosus</i> (Maire&Weiller) Rosúa var. <i>clementei</i> Rosúa.</p>

Cuadro 2. Cultivares de *Rosmarinus officinalis* L.

Alba Heavy Leaf, también llamado **Nancy Howard**. Seleccionado de la var. *genuina* f. *albiflora*. [60]. Erecto. Flores blancas [72].

Alida Hyde. Distribuido como **Prostrate # 4'**. Seleccionado de la var. *lavandulaceus* [60]

Angustifolius. Erecto, hojas lanceoladas, flores azules 55. Hojas de 1.5 mm de ancho [72].

Arp. Seleccionado de la var. *genuina*, en Arp, Texas [60]. Erecto, flores azules, aroma alimonado [40,41,45,90]. Florece en verano [54].

Athens Blue Spires. Erecto, flores azul claro, grueso [40].

Aureus. Erecto, flores azules, hojas con puntos amarillos [40,90].

Benenden Blue Seleccionado de la var. *angustifolius*. Originado en Bonifacio, Córcega Erecto, flores azules 40. Follaje verde oscuro [54,60,90,119].

Blue Boy. Postrado, flores azules 40. Es la variedad que tiene las hojas más pequeñas [90].

Blue Lady. Retorcido, flores azules-violeta, hojas muy lanceoladas, florece en verano [54]

Blue Spire. Seleccionado de la var. *genuina* f. *erectus*. Su origen se desconoce. Flores azul brillante. [54,60].

Collingwood Rosemary. Erecto, flores de color púrpura oscuro [54].

Collingwood Ingram probablemente sinónimo de **Majorca**. Seleccionado de la var. *genuina*, [60]. Erecto flores azul oscuro [40]. Hojas muy lanceoladas, florece en verano [54].

Dutch mill. Seleccionado de la variedad *genuina* . Originado en Forest Grove, Oregon [60].

Erectus (piramidal) Erecto, denso y compacto [72].

Fastigiatus. Es adecuado para cercas [54].

Girardus. Erecto, flores azules, follaje muy denso. Florece en verano [54]

Gorizia. Seleccionado de la var. *genuina*. Originado en Italia e introducido en Arlington, Virginia [60]. Erecto, las hojas tienen el doble de tamaño que las de *R. officinalis*, flores azules, más alto que todas las demás variedades, ramas densas, fragante. Florece en verano [54].

Cuadro 2. Cultivares de *Rosmarinus officinalis*. L. (cont.)

Herb Cottage Comercialmente es conocido con el nombre de **Foresteri**. Seleccionado de la var. *genuina*, originalmente distribuido por "Cathedral Herb Garden", Washington, D.C. [60].

Hill Hardy. Erecto, flores blancas [41]. Flores azules. Florece en verano [54]. Con un aroma semejante al pino [119]

Holly Hide. Distribuido como **Yellow Green Leaf**. Seleccionado de la var. *lavandulaceus* [60]. Postrado, hojas verde amarillentas, flores azules [40].

Humilis. Crece sobre roca [55].

Joyce De Baggio: Golden rain. Seleccionado de la var. *genuina* [60]. Erecto, flores azules [40,90]. Hojas con margen amarillo [40]. Abigarrado, florece en verano [54].

Ken Taylor. Hojas verde oscuro, pendulosas [42].

Kenneth Prostrate Rosemary. Postrado, las hojas son cortas y densamente agrupadas en los tallos, flores azules, rápido crecimiento, florece en verano y otoño [54].

Lockgood de Forest. Se le llega a confundir con **Prostratus**. Seleccionado de la var. *lavandulaceus* [60]. Originado en Santa Barbara, California [60]. Postrado, azul pálido. abundante floración, vigoroso [40,90]. Florece en primavera hasta inicio de otoño [42,44,119].

Ligth Logee Blue. Seleccionado de la var. *genuina*. Originado en Danielson, Connecticut [60]. Erecto, flores azules, follaje verde cenizo, florece en verano [54,60].

Logee White, se le conoce como **Alba**. Seleccionado de la var. *officinalis* f. *albiflora* [60]. Es la variedad que presenta la forma más erecta de crecimiento, flores blancas [40,41,90]. Densas hojas verdes, florece todo el año [42].

Madeline Hill. Erecto, flores azul pálido, vigoroso, ramificado [40].

Majorca pink. Seleccionado de la var. *pubescens* f. *roseus*. Origen desconocido [60]. Flores ligeramente rosas [90].

Miss Jessopp's Upright. Nombrado posteriormente **Miss Euphemia Jessopp**. Originario de Inglaterra. Erecto, flores blancas, buena cerca [40, 51,60,90].

Miss Jessopp's. Erecto, flores azules [54].

Mrs. Howard's. Postrado, flores pequeñas azules, rápido crecimiento, florece en verano [54].

Pine Scented. Flores azules, crece como un árbol de navidad en miniatura, las hojas tienen aroma de pino, florece en verano [54].

Pink Rosemary. Erecto, flores rosas hojas cenizas [40].

Cuadro 2. Cultivares de *Rosmarinus officinalis*. L. (cont.)

Prostratus. Se le conoce con los nombres de **Huntington Carpet** y **Santa Barbara**. Seleccionado de la var. *lavandulaceus* [60]. Postrado, azul brillante, hojas finas, verde oscuro [40,41,44,51]. Resistente a la sequía, florece en verano [54].

Rex. Erecto, flores azules, hojas verde oscuro [40]. Florece en verano [54].

Renzels. Postrado, flores de color azul violeta, resistente a la sequía y a las plagas [43].

Roman Vivace Seleccionado de la var. *genuina* Se desconoce su origen [60].

Sissinghurst Blue. Erecto, flores azules, hojas muy delgadas [40].

Suffolk Blue. Erecto, flores azul cielo brillante [40].

Severn Sea. Seleccionado de la var. *genuina*. Originado en Somerset, Inglaterra [60]. Erecto, flores azul violeta [54,90].

Shimmering Star. Postrado [54].

Silver Spires. Erecto, flores azules, hojas verde pálido, margen blanco [40].

Taylor's Blue. Se le conoce como **False Tuscan Blue**. Seleccionado de la var. *lavandulaceus* [60].

Tuscan Blue. Selección de la var. *rigidus*. Introducido de Tuscany, Italia [60]. Erecto, flores azul oscuro [40], hojas verde oscuro [40,90]. Florece en primavera y verano, florece abundantemente, muy aromático [54,60].

Very Oily Seleccionado de la var. *genuina*. Originado en "Huntington Botanical Gardens", San Marino, California [60].

Weel Sweep Golden Seleccionado de la var. *genuina*. Originado en Port Murray, New Jersey. Hojas color oro [60].

Wood Blue Lady Rosemary. Postrado con flores azul violeta [54].

White Flowered. Flor blanca. erecto. extremadamente fragante [40].

I.3. Descripción botánica.

De acuerdo con Linneo [31], y la Flora Europaea [15], la especie *R. officinalis* presenta las siguientes características (Fig. 1):

Forma de vida. Arbusto perennifolio.

Hojas. Sésiles, lineares y coriáceas con margen entero revoluto, glabras por el haz y tomentosas por el envés.

Flores. Verticiladas en racimos cortos axilares. Cáliz ovoide campanulado, glabro en el interior de la garganta, 11 nervios, con 2 labios, labio superior entero, labio inferior con 2 lóbulos. Corola azul-púrpura, azul pálido o blanquizca, bilabiada; tubo exerto, glabro por dentro, dilatado hacia la garganta; labio superior erecto, bífido, labio inferior grande amplio, 3 lóbulos, el lóbulo de enmedio más grande, cóncavo declinado, margen dentado; lóbulos laterales oblongos. 2 estambres exertos y paralelos, los filamentos con un pequeño diente lateral, recurvados cerca de la base. El estilo más grande que los estambres, no ramificado.

Fruto. Tetranúcula, 3 o 4 nuececillas marrones encerradas en el cáliz.

Semillas obovadas de color castaño rojizo.

Presenta posición postrada o erecta dependiendo del sitio donde crece.

Varietades de *Rosmarinus officinalis* L. según Turrill (1920) [76]

var. *genuina*. Arbusto erecto de 60 a 1m de altura, ramoso. Hoja larga angosta linear de 2 a 3 cm margen revoluto, subtomentosa. Inflorescencia 1 a 2 cm de longitud, pulverulenta a subtomentosa o subglabra, bráctea lanceolada o lanceolada ovada, pedicelo 3 mm de longitud, cáliz campanulado de 5 mm de longitud, provisto de glándulas sésiles, ligeramente puberulento, corola 1 cm de largo o más.

f. *erecta* arbustillo erecto

f. *humilis* arbustillo postrado con ramas difusas

f. *albiflorus* corola blanca

var. *rigidus* arbustillo robusto, tallo rígido, ramas erectas, hojas más o menos erectas corola de boca grande.

var. *angustifolius* arbustillo erecto, hojas delgadas de 1 mm corola de boca grande.

var. *latifolius* arbustillo.

var. *pubescens* inflorescencia densa, pubescente.

f. *roseus* flores rosas.

Rosmarinus officinalis L.

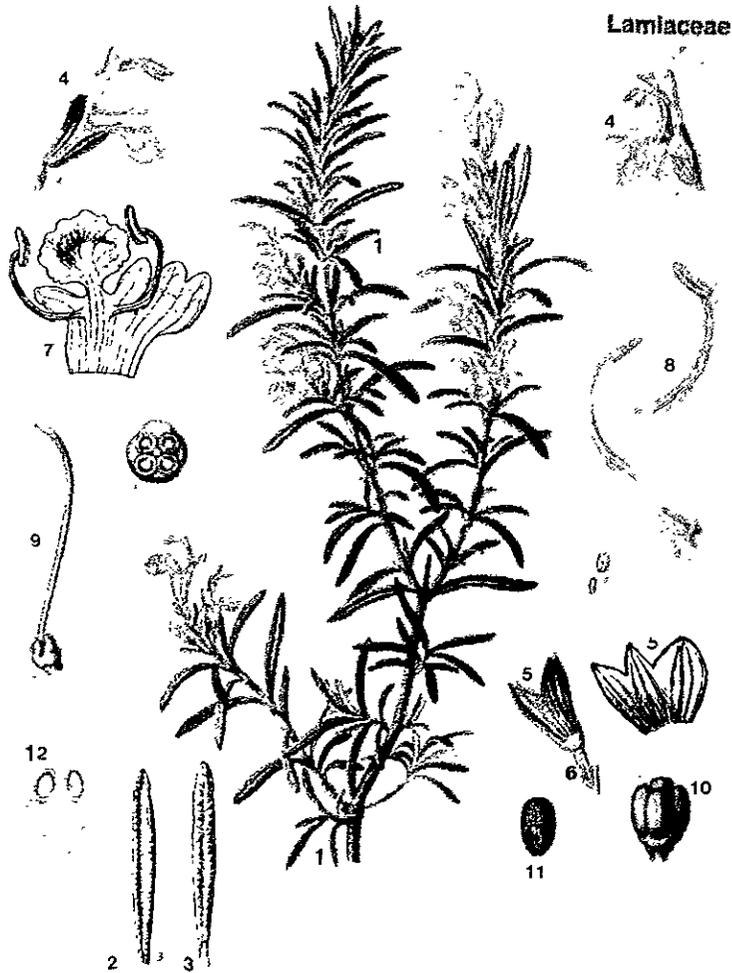


Figura.1 *Rosmarinus officinalis* Linnaeus 1. rama floral. 2. envés de la hoja mostrando margen revoluto. 3. haz de la hoja. 4. flor. 5. cáliz cerrado. cáliz abierto. 6. pedicelo. 7. corola abierta mostrando estambres. 8. estambre con anteras. 9. pistilo. 10. fruto. 11. semilla. 12. ovario. Tomado de Missouri Botanical Garden-TROPICOS. Litografía de color, Kohler's Medizinal Pflanzen. Fotografiado por James Zarucchi [142], figuras en blanco y negro de *Mi Die Xiang* [142].

I.4. Atributos, usos y nombres populares del romero en el mundo.

"aquí traigo romero que es bueno para la memoria". Hamlet¹⁴³

La especie *Rosmarinus officinalis* L. es una planta de origen mediterráneo con múltiples usos y conocida en prácticamente todo el mundo. Desde tiempos antiguos el romero fue importante en ceremonias religiosas y festividades públicas en países como España, Grecia y Roma; todavía, en el Sur de España, las hojas y flores del romero son esparcidas durante las procesiones religiosas [1]. Los estudiantes griegos usaban el romero para ayudarse a recordar. En las ceremonias matrimoniales se incorporó como símbolo de fidelidad entre los esposos, y en los funerales como promesa del recuerdo [140]. En Inglaterra, se dice que el romero es una planta que podría representar la causa del movimiento de liberación femenina, ya que según una creencia inglesa, la planta prospera en el jardín de una familia donde el ama de casa es realmente la que manda [2]. Además de su relación mística con el hombre, el romero sustenta toda una industria químico farmacéutica [1,2,5,37,51]. Su importancia en la medicina tradicional es reconocida mundialmente [5,6,8,23,24,50,94], así como su actividad farmacológica [78,112] y en la industria cosmética [9]. Se han identificado más de 250 compuestos químicos [50,78,120] y reportado más de 80 categorías terapéuticas para esta planta [78,121,122]. Actualmente se producen 300 toneladas de aceite esencial de romero en todo el mundo, siendo España, Marruecos y Túnez los países de mayor producción [3]. También el romero es usado como cubierta de suelo [5,51] para el control de la erosión [42,51], es repelente de insectos [5,11,40,69], y especie melífera [139,51]. En la cocina se usa como condimento, saborizante [5,40,51,57] y antioxidante [9,20], además de su uso ornamental [5,54].

En diversos países la especie *R. officinalis* es conocida y nominada con diferentes nombres, algunos ejemplos de los nombres populares con los cuales se le reconoce a esta especie son mencionados a continuación.

México: romero. España: romero, romeo, romaní¹⁴, rosmario⁴⁷, rosmarino⁶⁷, aroma de mar⁶⁸, romero común⁶⁸. Catalán: romaní⁶⁸, romanill⁶⁸, romanyí⁶⁸, romer⁶⁸. Francia: romarin⁶⁷, encensier^{14,47}, rosmarin encens⁴⁷, herbe aux couronnes⁶⁸, omarin⁶⁸. Inglaterra: rosemary^{14,67}, old man⁴⁷. Alemania: rosmarin^{14,47}, rauzenkraut⁶⁸. Italia: rosmarino^{14,67}, ramerino^{47,68}, erba delle corone⁶⁸, gusmarino⁶⁸, romanin⁶⁸, rosamarina⁶⁸, romeo⁶⁸, romero coronario⁶⁸, tresmarino⁶⁸. Arabia: ikلیل al-jabal⁴⁷. China: mi tieh hsiang⁴⁷. Holanda: rozemarijn⁴⁷, rosmarin⁶⁷. Finlandia: rosmariini⁴⁷. Portugal: alecrim⁴⁷. Japón: Mannenro⁴⁷. Rusia: rozmarin⁴⁷. Suiza: rosmarin⁴⁷. Brasil alecrinzeiro⁶⁸. Polonia: rozmarin lekarski⁴⁷.

1.5. El Romero en México.

Etnobotánica

El romero forma parte de la nueva herbolaria mexicana, así llamada por Lozoya (1986) a la combinación de recursos europeos y locales en la medicina tradicional [71]. Con un enfoque distinto, Bye *et al.* (1995) ubican al romero dentro del "sincronismo", un rasgo de aculturación que en el caso de las especies de plantas medicinales usadas por la cultura dominante, sustituyeron especies locales de la medicina Azteca [114].

En la parte mística, ritual y religiosa, también se vislumbra el uso de las plantas introducidas. Desde la colonia la ruda, el romero y el ajo son plantas utilizadas como amuletos (remedio preventivo) o como partes en la confección de estos [141]. El romero al entrar en contacto con un pueblo de gran tradición agrícola y herbolaria, se incorporó a la vida cotidiana de aquellos que buscaban su salud, su protección y bienestar con plantas medicinales [141].

Actualmente se puede observar que en lugares como Xochimilco D.F., Milpa Alta, D.F., Puebla, Edo. de México, Morelos, el día *Domingo de Ramos*, las palmas que simbolizan la alegría, se adornan con plantas aromáticas entre las que destacan el romero y la manzanilla (obs. pers).

Dentro de la medicina tradicional el romero es considerado una planta con cualidades calientes y se usa en el tratamiento de enfermedades frías [127,128, 48]. Usada como planta medicinal se emplea tanto en tratamientos de enfermedades relacionadas con el aparato digestivo*, el sistema nervioso*, aparato reproductivo*, hepatobiliar*, piel*, cardiovascular*, músculo esquelético*, oído*, nariz* y garganta*, así como en rituales y síndromes de filiación cultural ("limpias", "mal de ojo", "mal de espanto", "aires") [123]. Los modos de preparación para el uso de esta planta son la infusión*, cocción*, vaporizaciones* y en sahumeros*. Las partes de la planta más empleadas son las hojas* flores* y ramas*.

Un indicador de la importancia de esta planta para algunos grupos indígenas de México, es que le asignan un nombre específico en su lengua. Así, los zapotecos la nombran Guixi-cicanaca [13], y los nañús jäpi*.

* Información recopilada de los ejemplares de los Herbarios del MEXU, del IMSSM y de la ENCB.

Uso medicinal de los romeros "M" y "H".

- *"Levántate Sancho, si puedes, y procúrate un poco de aceite, vino, sal y romero para hacer el bálsamo de fierabrás, que nos cure de nuestras heridas..."*

...*"El cabrero tomó algunas hojas de romero, las mascó, las mezcló con un poco de sal y aplicandoselas a la oreja de Don Quijote, se la vendó muy bien."*
El Ingenioso Hidalgo Don Quijote de la Mancha¹⁴⁷.

En el mercado de Sonora, D.F. Linares *et al.* (1990), registraron al romero como planta ritual; es un elemento importante en los ramos de "limpia", y se prefiere al romero "M" por ser "más fuerte" [48]. En el Edo. de Morelos, Soberanes y Boyás (1991) *cif. m.* [80] reportan el uso combinado de los romeros "M" y "H" para dolencias relacionadas con la salud de las mujeres. En Oaxaca, la "Flora Medicinal Indígena de México" registra el uso combinado de los dos romeros contra las dolencias reumáticas [7]. Además en este mismo Estado, el romero "M" tiene un uso veterinario en el tratamiento de "falseaduras" de vacas y toros [7].

En la tabla 1, se resume la información etnobotánica sobre los usos medicinales del romero en México.

Tabla 1. Información Etnobotánica sobre los Usos Medicinales y Modo de Preparación de *R. officinalis* L.

USO	PREPARACIÓN	LUGAR
<i>MÉDICINA TRADICIONAL</i>		
"Mal de ojo".		Chiapas [82] Chiapas, Tenejapa* Hidalgo.*; D. F. Xochimilco.*
"Mal aire"	Ahumaciones.	México. San Felipe del Progreso. (Mazahua).*
"Pale".	Cataplasmas.	D.F. Milpa Alta, Santa Ana Tlaxotenco [22].
"Mal de espanto"		Tamaulipas, Gómez Farías. Ejido Altacima.*
"Caída de la moillera"	Ahumar.	D.F. Milpa Alta, Santa Ana Tlaxotenco [22].
"Mal del corazón".	El té de tallo y hojas.	Oaxaca. Santa María Jicaltepec.*
Para "que se caliente la creatura".	Baños.	Oaxaca. San Juan Guichicovi.*
Cuaje y asombro		Veracruz, Coxquihui (Totonacos) [100].
"Limpias"	"Barrido con un ramo de diversas hierbas"	Tlaxcala. San Juan Ixtenco.*
Rituales.		D.F. Mercado de Sonora [48].
<i>SALUD DE LA MUJER</i>		
Baños postparto	Se usa el romero macho junto con ruda, jarilla y pirul en baños de temazcal (Obs. directa).	D.F. Milpa Alta, San Pablo Ozotepec.
		Hidalgo. Huasteca [77].
		México. San Pablo Ixzayo.*
	Cocción de romero, pericón y eucalipto.	México. San José Río Hondo.*
	Cocción.	México. San Dieguito.*
	El té de hojas y tallos.	México. San Juan Tepecoculco.* Nuevo León. Mun. Anáhuac.*
		Puebla. Quimixtlán.*

Tabla 1. Información Etnobotánica sobre los Usos Medicinales y Modo de Preparación de *R. officinalis* L. (cont.)

USO	PREPARACION	LUGAR
Baños postparto.	Se hace un cocimiento de 25 cm de 3 ramas de romero, estafiate, joral de sabana, sábila, hoja de azafrán y dos pedazos (20x10cm) de cáscara de oocholi; numpi en 10 litros de agua, se bañan con esta agua cada 4 días cuatro veces.	Veracruz, Hueyapan de Ocampo, Santa Rosa (Popolocas) [7].
Fertilidad de la mujer.	ramas con hojas en cocción.	Tepoztlán, Morelos [148]
Esterilidad temporal.	En baños se mezcla con otras plantas.	Michoacán, Ejido el Rosano [92].
Regulador de la menstruación y "vientre frío".	Se ocupan sus ramas para hervirse y obtener un agua especial que se emplea en baños.	D.F. Mercado de Sonora [48].
"Apretar la vagina".	Infusión, cocción y baños.	D.F. Milpa Alta, Santa Ana Tlacotenco [22].
Baños vaginales.	Las flores y ramas de romero, manzanilla y ruda, puestas en alcohol Vía de administración cutánea. Se pone a hervir agua con romero macho y romero hembra una colita de nanche corteza de cuachalalate y un sobre de permanganato de potasio. Infusión.	Hidalgo. Huasteca [77].
Durante el embarazo.	Hojas hervidas con jabón neutro. Se pone una cucharada de polvo de corteza de cuachalalate por litro de agua con romero, tlachichinole, capitaneja, hierba del cáncer y árnica. Cocción de las ramas.	Guanajuato. Dr Mora [79].
Dolor de menstruación.	Se usa el cogollo combinado con Santa María, 5 g de cada planta hervida en medio litro de agua en té, una taza en ayunas y otra en la noche dos veces por semana.	Diversos mercados de Morelos [80].
Inflamación de ovarios	Cocción y baños.	Puebla, Valle de Tehuacán [91].
Flujo vaginal	Cocción y baños.	Hidalgo. Nopala.*
		Diversos mercados de Morelos [80].
		Oaxaca. Ixtlán.*
		Oaxaca. Nochistlán, San Pedro Tidaa. (Mixtecos) [7].
		Hidalgo. Huasteca [77].
		Veracruz. Coxquihui (Totonacos) [100]
		Hidalgo. Huasteca [77].

Tabla 1. Información Etnobotánica sobre los Usos Medicinales y Modo de Preparación de *R. officinalis* L. (cont.)

USO	PREPARACIÓN	LUGAR
"Té que se le da a las señoras antes de dar a luz".	Se hace un cocimiento con mazos de 25 cm de 3 ramas de romero, 2 ramas de ruda, 3 ramas de estafiate o hierba de incienso y dos ramas de manzanilla, en 1 litro y medio de agua, se deja 10 minutos en la lumbre. Cuando tiene la señora los últimos dolores se le da medio pocillo y se le sigue dando 15 días.	Veracruz, Hueyapan de Ocampo, Santa Rosa (Popolocas) [7].
APARATO RESPIRATORIO		
Tos, baja la fiebre de los resfriados.	Se hierve una ramita en medio litro de agua junto con la mitad de un limón con cáscara y endulzado con miel.	Chiapas, Motozintla, Año de Juárez (mam) [7].
Tos.	Infusión	México, San Andrés Tuxtlan.*
Resfriados		Zacatecas, Juan Aldama.*
Gripa		Tlaxcala, San Juan Ixtenco.*
Catarro.	Inhalado.	Nuevo León, El Progreso, Mina.*
	Infusión	Chiapas, Tenejapa.*
Ataque de aire, sofocos.		Michoacán, Tzintzuntzan.*
Congestión		Veracruz, Coxquihui (Totonacos) [100].
Desobstruyente y sudorífico.	infusión de la planta completa	Nuevo León [28].
OJOS		
Quita las nubes y carnosidades de los ojos.	El zumo (jugo) de las hojas.	Chiapas, Motozintla, Año de Juárez (mam) [7].
	Una gota diaria de infusión de la ramita.	Tamaulipas.*
Enfriamiento (ojos).	En té y en baños	Puebla, Valle de Tehuacán [91].
PIEL Y CABELLO		
	En té y en baños	Puebla, Valle de Tehuacán [91].
Caspa y caída del pelo.	Se prepara con jabón y otras hierbas.	México, San Felipe del Progreso, (Mazahua).*
	Cocción con cáscara de nogal y ramas de romero.	México, San Juan Tepecoculco.*

Tabla 1. Información Etnobotánica sobre los Usos Medicinales y Modo de Preparación de *R. officinalis* L. (cont.)

USO	PREPARACION	LUGAR
Casma y caída del pelo.	Hojas hervidas con jabón neutro.	Hidalgo, Nopala.*
		Puebla.*
	ramas con hojas en cocción	Tlaxcala, San Juan Ixtenco.*
	Infusión.	Tepoztlán, Morelos [148] D.F. Mercado de Sonora [48].
Cicatrizante de heridas		Veracruz, Misantla.* Puebla.*
APARATO DIGESTIVO		
Digestión		Veracruz, Misantla.*
Bilis.	En té y en baños	Puebla, Valle de Tehuacán [91].
	Cocción.	D.F. Milpa Alta, Santa Ana Tlaxotenco [22].
Dolores estomacales y cólico	baños, hoja condimento.	Oaxaca. San Juan Guichicovi.*
	Infusión	México. Ozumba.*
Tifo.	Infusión, cocción y baños	Hidalgo. Huasteca [77].
	Cocción.	D.F. Milpa Alta, Santa Ana Tlaxotenco [22].
Diarrea		Tamaulipas, Gómez Farías. Ejido Altacima.*
Inflamación de estómago.	Se toma el cocimiento de 10 gr. de romero	Guerrero. Alarcón [8].
	Se usa el cogollo combinado con Santa María, 5 g de cada planta hervida en medio litro de agua en té, una taza en ayunas y otra en la noche dos veces por semana.	Oaxaca. Nochistlán, San Pedro Tlaxaa. (Mixtecos) [7].
Vómito.		
Amacizar los dientes	Ramas con hojas en cocción	Tepoztlán, Morelos [148]
Úlcera gastrointestinal	Cocción	Guerrero. Alarcón [8].
MUSCULO ESQUELETICO		
Dolor muscular.	Friegas con alcohol	México. Ozumba.*
Golpes	Se frota con alcohol preparado con el romero	D.F. Tlapan.*
Dolor de cuerpo	Friegas con ruda, estafiate y romero.	México. San Juan Tepeocuilco.*

Tabla 1. Información Etnobotánica sobre los Usos Medicinales y Modo de Preparación de *R. officinalis* L. (cont.)

USO	PREPARACION	LUGAR
Artritis	En té y en baños	Zacatecas, Juan Aldama.*
	Se ocupa molido, se hace en pomadas combinado con sábila y valeriana, dándose masaje es muy caliente y deben darse reposos, es mejor que se aplique en tiempo de cuaresma por unos 15 días, dos veces por semana en las noches.	Oaxaca, Nochistlán, San Pedro Tidaa. (Mixtecos) [7].
Dolores reumáticos	romero macho combinado con el romero hembra .	Oaxaca, Nochistlán, San Pedro Tidaa, (Mixtecos) [7].
CABEZA		
Dolor de cabeza		Nuevo León. Mun. Anáhuac.*
Ataques epilépticos	Infusión, cocción y baños	Hidalgo. Huasteca [77].
SISTEMA NERVIOSO	Infusión, cocción y baños	Hidalgo. Huasteca [77].
Tranquilizante	Infusión de la planta completa	Nuevo León [28].
CORAZON		
Dolor de corazón		Veracruz, Misantla.*
fortalece glóbulos rojos		México. San Juan Tepecoculco.*
OTROS		
Baños de vapor.		Hidalgo. Tolucauca.*
Encender la leña de los baños de temazcal	En los baños de Temaxcal para que prenda la leña arrojan a la homilla: incienso, romero y venas de chile.	Puebla. Los Reyes de Juárez [81]
Caldeados en falseaduras de vacas y toros.	Se clasifica en romero macho especial para vacas y toros	Oaxaca, Nochistlán, San Pedro Tidaa. (Mixtecos) [7].

* Información recopilada de los Herbarios del MEXU, del IMSSM y de la ENCB.

Caracterización popular de los cultivares de romero "M" y "H".

Linares *et al.* 1990 mencionan que en el mercado de Sonora distinguen plantas de romero "M" y "H" y ambas plantas son de la misma especie, considerando al romero "H" como "una forma diferente" [48].

Comerciantes de plantas medicinales, agricultores y herbolarios que a continuación damos a conocer sus nombres, edad y lugar de procedencia, conocen como tipificar los dos cultivares. En el D.F., San Luis Tlaxialtemanco, Xochimilco Don Anastacio Medina Cruz, 71 años agricultor; en San Pablo Oztotepec, Milpa Alta Doña Virginia García, 47 años comerciante y herbolaria; doña Marcelina Rivera Chávez, 54 años comerciante de Santa Ana Tlacotenco, Milpa Alta. En el Mercado de Sonora Rosa Adaya Rosales, 24 años, oriunda de San Miguel Atlautla, comerciante; Doña Lidia Rosales Roldán, 56 años comerciante y Guadalupe Soto, 60 años, comerciante. En el Edo. de México en Tepetlixpa Paula Castillo 50 años, agricultora y comerciante. Distinguen dos tipos de romero por el ancho y color de la hoja, por la apariencia de la planta, por su aroma y sus propiedades:

La forma conocida como "M" está caracterizada por tener hojas "anchas" y "cenizas"; la planta tiene un color "verde oscuro", "florea poco" y su aroma es más "fuerte", es "más caliente", "resiste más", tiene "mayor fuerza", es más efectivo", "se vende más". La forma "H" está caracterizada por sus hojas "delgaditas" "verde limón", "florea más", tiene "menos aroma", "es menos fuerte", "menos efectivo", es "blandita" y "se echa a perder más pronto" (cuadro 3).

El señor Carlos García García (30 años) herbolario de San Pablo Oztotepec Milpa Alta; en San Matías Cuijingo, Doña Dominga Rosas García, 48 años, comerciante y Don Bonifacio Aguilar, 67 años agricultor de Purificación Texcoco caracterizan los dos romeros también por el ancho de la hoja, el olor, el color y sus propiedades, solo que invierten el nombre: el romero "M" como romero "H".

Doña Jacinta Martínez Salazar, 45 años comerciante de plantas medicinales del mercado de Cuetzálán, Puebla, y Doña Fidencia Flores Garibay de Santa Ana Tlacotenco, Milpa Alta, conocen dos tipos de romero, sin embargo, para diferenciarlos dicen que el romero "M" "no florea" y el romero "H" si.

Cuadro 3. Características y propiedades distintivas en la taxonomía popular del romero de acuerdo con los comerciantes de plantas medicinales, agricultores y herbolarios.

Romero 'H'	
"Hojas delgaditas"	
Color "verde limón".	
Olor "débil"	
"menos fuerte"	
"menos efectiva"	
"es blandita"	
"se echa a perder más pronto"	
"florece más".	
Romero 'M'	
"Hojas gruesas", "cenizas",	
Color "verde oscuro"	
Olor "fuerte"	
"tiene mayor fuerza"	
"es más efectivo"	
"es más caliente"	
"resiste más"	
"florece poco"	

Distribución, Tipos de Vegetación, Hábitat y Cultivo.

El romero es una planta que ha sido distribuida en diversos estados del país (cuadro 4).

También se ha llegado a coleccionar en los siguientes tipos de vegetación:

Bosque de coníferas y encino*

Bosque mesófilo de montaña*

Vegetación secundaria*

Bosque tropical subcaducifolio y matorral mediano espinoso*.

El romero se desarrolla sobre suelo arenoso*, arcilloso*; suelo fluvisol*, eútrico grueso, llanura con toba andesítica*; suelo franco arcilloso*; suelo negro con roca caliza*; crece también en terrenos pedregosos*, en pastizales*, arenas* y laderas áridas*. Es resistente a la sequía (obs. pers.). Se establece mejor en suelo alcalino bien drenado y a pleno sol [41], con un clima templado subhúmedo* y una altitud que va de los 150 a los 2350 msnm*.

Es propagado asexualmente por cortes de tallo (10-15 cm de largo) y esquejes, que llegan a enraizar a las 3 semanas después de la siembra; propagada asexualmente la floración comienza a los 3 años de edad (Anastasio Medina Cruz, com. pers.), rara vez se propaga por semilla, debido a que son poco viables y presentan un porcentaje de germinación bajo (1-3%) obs. pers. [25,108].

* Información recopilada de los ejemplares de los Herbarios del MEXU, del IMSSM y de la ENCB.

Cuadro 4. Distribución de *R. officinalis* L. en México*

Baja California Sur.

San Antonio de la Higuera.

Chiapas.

Tenejapa. Comitán

Distrito Federal.

Delegaciones: Coyoacán. Cuajimalpa. Tlalpan. Xochimilco. Milpa Alta: Santa Ana Tlacotenco, San Pablo Oztotepec.

Hidalgo.

Cuesta de San Pedro. San Juan Hueyapan. Tolcayuca. Taxay, municipio de Nicolás Flores. Nopala

Morelos.

Coatlán del Río. Jojutla. Xoxocotla. Puente Ixtla. Tepoztlán.

México.

Texcoco, Cerro de Tetzcutzingo. San Nicolás Tlamincas, municipio de Texcoco. Ozumba. San Lucas Ocoatepec, municipio de San Felipe del Progreso. San José Río Hondo. San Dieguito. San Pablo Ixayo. Tepetlixpa. Purificación. San Juan Tepecoculco. San Andrés Timilpan.

Michoacán.

Tzintzuntzan.

Nuevo León.

Ejido Nuevo Camarón, municipio Anáhuac. El progreso, Mina.

Puebla.

Teziutlán; Quimixtlán.

Oaxaca.

Municipio de Comaltepec, Distrito de Ixtlán. Tepitongo, municipio Totontepec. San Juan Guichicovi. Cd. de Oaxaca. Santa María Jicaltepec. Benito Juárez, municipio Lachatao, Distrito Ixtlán.

Tamaulipas.

Municipio Jaumave. Ejido Altacima, municipio M. Gómez Farías.

Tlaxcala.

San Juan Ixtenco. San Juan Quetzalcupan, municipio San Juan Tzompantepec. Jaguey Prieto, municipio de Apizaco.

Veracruz.

Municipio Rafael Lucio. Jardín Botánico Fco. Javier Clavijero, Xalapa; Misantla. Santa Rosa Lomalarga municipio Hoeyapan de Ocampo. Naolinco. Xico.

Zacatecas.

Juan Aldama.

* Información recopilada de los ejemplares de los Herbarios del MEXU, del IMSSM y de la ENCB.

Aspectos anatómicos de *Rosmarinus officinalis* L.

El romero presenta a nivel anatómico caracteres xeromórficos muy marcados. El tallo tiene contorno cuadrangular y en corte transversal presenta xilema secundario bien desarrollado alrededor de una médula parenquimatosa cuyas células presentan abundantes campos primarios de punteaduras. Por fuera del xilema secundario se encuentra el floema secundario y por fuera de este se conservan los tejidos primarios: esclerénquima representado por grupos de fibras, parénquima cortical, colénquima especialmente desarrollado en los ángulos del tallo, y epidermis, que es uniestratificada y presenta pelillos no glandulares de tipo dendrítico, y pelillos glandulares conspicuos por su tamaño y por carecer de pedicelo [46].

La hoja tiene el borde doblado hacia el envés, y tanto la vena media como las venillas secundarias sobresalen del nivel del mesófilo. Todo esto favorece que la hoja muestre un contorno característico, donde se aprecian salientes y depresiones en la que tricomas glandulares y no glandulares semejantes a los del tallo se desarrollan profusamente [46].

Las hojas de los romeros "M" y "H" de las poblaciones de San Pablo Oztotepec, Milpa Alta D.F., muestran diferencias de tamaño y de contorno al corte transversal. Desde un punto de vista meramente cualitativo, las hojas de romero "H" son más angostas y tienen menos depresiones que las del romero "M", y también se aprecia que el número de pelillos glandulares que presentan es menor (Zlotnik, A. com. pers.) (fig 2).

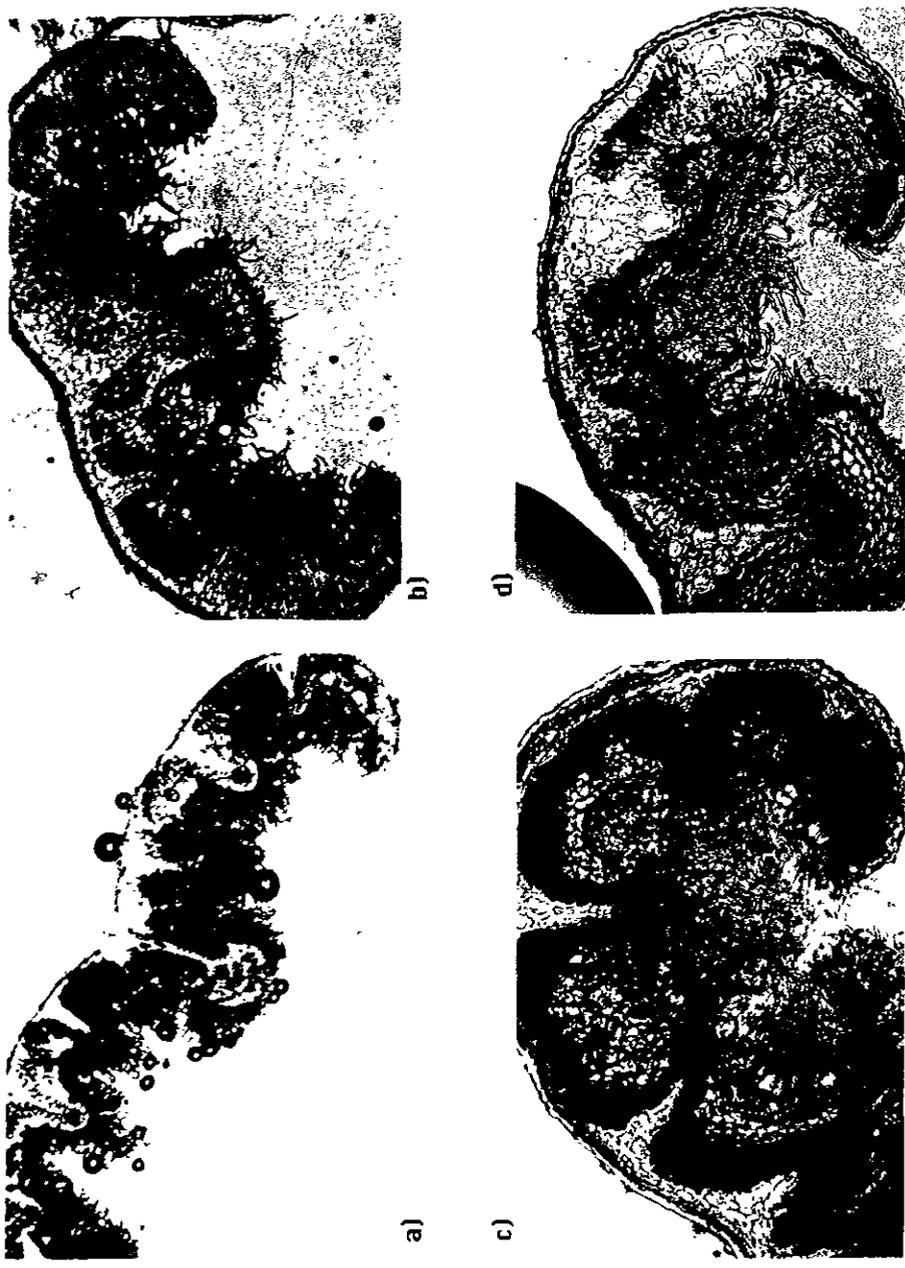


Figura 2 . Cortes transversales de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.
 a) romero " M " 10x. b) romero " M " 16.584x. c) romero " M " 25.2x. d) romero " H " 25.2x.

I.6. Caracteres morfológicos de los romeros "M" y "H".

Se estudiaron dos poblaciones de *R. officinalis* de San Pablo Oztotepec, Milpa Alta, D. F. (Zona de Estudio. Mapa 1). Se realizaron observaciones de campo durante la etapa de floración (mayo a enero) de los romeros "M" y "H" en los años de 1997 y 1998. La comparación y el estudio de la variabilidad morfológica de los dos cultivares se efectuó sobre 12 caracteres de flores y hojas de 10 individuos de romero "M" y 10 individuos de romero "H" seleccionados aleatoriamente. Se realizaron 192 observaciones durante la etapa de floración de los años antes mencionados, correspondiendo 96 observaciones para cada cultivar. Las hojas evaluadas fueron, la primera de cada nódulo en línea ascendente de una rama floral, las flores de cada individuo se seleccionaron al azar; también se midió la altura de cada individuo con una cinta métrica. Las mediciones de hojas y flores se realizaron con material fresco y con un vernier.

Se colectaron ejemplares para herborizar y muestras de flores con polen. Los ejemplares de herbario fueron depositados en el Herbario de la Universidad Nacional Autónoma de México (MEXU) con número de registro del 846428 al 846434 y en el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano de Seguro Social (IMSSM) con número de registro del 12785 al 12794.

Los ejemplares examinados para la determinación de los cultivares fueron:

Mercado de Sonora D.F. Abigail Aguilar2391 (IMSSM).
 San Juan Tepecoculco, México. José García 10943 (IMSSM).
 San Nicolás Tlamicos, Texcoco, México. J. Rzedowski 4030 (IMSSM).

Los cultivares también se cotejaron con las descripciones de Linneo [31] y la Flora Europaea [15], y con la clasificación de Turrill [76] se determinó su categoría infraespecífica.

Los caracteres analizados fueron los siguientes:

- 1.- Longitud de la corola. La medida se realizó desde el extremo del labio superior hasta la base del tubo.
- 2.- Longitud del labio inferior. La medida se realizó desde el extremo del labio inferior hasta la garganta del tubo
- 3.- Color de la corola.
- 4.- Longitud del filamento estaminal.
- 5.- Color del filamento estaminal
- 6.- Longitud del estilo.
- 7.- Color del estilo.
- 8.- Color de la antera.
- 9.- Longitud del pedicelo. Se midió del extremo del pedicelo hasta la base del cáliz.

10.- Longitud del cáliz. Se midió de la base del cáliz hasta el extremo del labio superior entero.

11.- Largo de hoja. Desde el extremo a la base, hasta la punta.

12.- Ancho de la hoja. A mitad de la hoja.

1.7. Granos de Polen de los romeros "M" y "H".

El material polínico utilizado en el presente estudio, fue obtenido de la colecta de flores completas de cuatro individuos "M" y cuatro individuos "H" en noviembre de 1997. Cabe mencionar que estos individuos fueron seleccionados al azar de un conjunto de 20 individuos que constituyeron la muestra total de las poblaciones "M" y "H" para el estudio de los caracteres morfológicos.

Las flores se procesaron con la técnica convencional de acetólisis de Erdtman (1960) [110]. Se realizaron 10 mediciones en vista ecuatorial y en vista polar de cada individuo. En vista ecuatorial se midió eje polar y eje ecuatorial. En vista polar se midieron dos diámetros de los ejes, distancia entre colpos adyacentes, distancia entre colpos opuestos, la exina diferenciada entre: sexina y nexina. La descripción de los granos de polen se realizó con la clasificación de Erdtman (1952) [103].

Las mediciones se realizaron a través de un microscopio óptico de luz transmitida Olympus CH30 con cámara automática adaptada. Se fotografiaron los granos de polen con película Plus x pan 125 y se revelaron con HC110.

Las laminillas con los granos de polen fueron depositadas en las colecciones palinológicas de los Institutos de Biología y de Investigaciones Antropológicas de la UNAM.

1.8. Análisis estadístico de la variabilidad de caracteres morfológicos del romero "M" y "H".

Se realizó un análisis discriminante también llamado de clasificación, identificación o asignación, el cual se encuentra dentro de los métodos multivariados. Este análisis identifica grupos de objetos con base en un conjunto de variables que permiten distinguir o discriminar estos objetos asignándolos a grupos específicos definidos *a priori* y poniendo a prueba su identidad [125,126]. Las variables consideradas actúan como variables de clasificación y para cada una se calcula un peso o capacidad discriminatoria. La separación de los grupos se obtiene por medio de una función que permite distinguirlos además de clasificar observaciones futuras no identificadas en el grupo al que pertenecen [124]. Cuando se analizan dos grupos (es el caso del presente estudio) se calcula una sola función discriminante:

$$\text{Grupo} = a + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + \dots + b_m \cdot x_m$$

donde a es una constante y b_1 a b_m son coeficientes de regresión [126]

Con este método se puede probar la hipótesis nula de que los dos cultivares estudiados son iguales y las diferencias se deben al azar, utilizando Lambda de Wilks como índice de discriminación. Cabe mencionar sin embargo, que no permite concluir sobre la causalidad entre las variables dependientes e independientes, puesto que no son grupos controlados experimentalmente [124].

Se construyeron dos matrices básicas de datos con los resultados obtenidos de las 192 observaciones de las estructuras vegetativas y reproductivas y polen (ver anexo "morfología: hojas, flores" y "datos polen")

Se realizaron análisis de varianza de una vía para observar las tendencias específicas de cada carácter entre las dos poblaciones de romero "M" y "H" y se aplicó la prueba de Tukey para determinar los intervalos en los cuales una población se distingue de otra para cada variable. Sin embargo, este análisis no permite probar la hipótesis nula de que las poblaciones de romero "M" y "H" son iguales entre sí, la prueba de tal hipótesis se ha efectuado con el análisis discriminante. Los análisis de varianza y discriminante se realizaron utilizando el programa Statistica. Todos los análisis fueron efectuados al 95% de confianza.

I. 9. Descripción de los Romeros "M" y "H".



Los romeros "M" y "H" son perennifolios, tienen una forma de vida arbustiva, presentan una corteza que se separa en bandas de color café a pardo grisácea, ramas ascendentes y raíz profunda. Los renuevos del tallo en el romero "M" son cenizos y los del romero "H" son de color verde-limón (Fig. 3) . En la tabla 2 se resumen los datos obtenidos en los muestreos y los caracteres que presentaron diferencias significativas de acuerdo con los análisis de varianza.

Figura 3. Renuevo de tallo de los cultivares "H" y "M".

Tabla 2. Caracteres morfológicos evaluados de los cultivares de romero "M" y "H" *R. officinalis* L.

Caracter	Romero "M"	Romero "H"
Altura	80 a 1 m de altura	90 a 1.35 m de altura.
Flor		
Longitud de la corola.	7(9.2)11.7 mm	7.8(10.01)12 mm
Longitud del labio inferior	5.3(7.1)9 mm	5.5(7.4)9.6 mm
Color de la corola.	blanca a lila pálido	lila pálido
Longitud del filamento estaminal.	2(7.9)10.8 mm**	2.9(10)13 mm**
Color del filamento estaminal	blanco a lila pálido	violeta pálido brillante
Color de la antera	morado azulado y café	morado azulado y café
Longitud del estilo	9(14.2)15.5 mm**	12(17.7)20 mm**
Color del estilo	blanco a lila pálido	violeta pálido brillante
Longitud del cáliz	4.5 (5.8) 6.8 mm	3.2(5.3)6.4 mm
Longitud del pedicelo	2(4.1)4.6 mm	2.7 (3.8) 5.7 mm
Hoja		
Longitud de la hoja	12.8(21.5)31.5 mm	10.7(21.8)39.4 mm
Ancho de la hoja	1.8(2.9)4.3 mm**	1.4(2.1)3.2mm **
Color de la hoja	verde oscuro	verde claro

** diferencias significativas ($p < 0.05$).

1.9.1. Descripción del romero "H".

El análisis de los caracteres morfológicos indicó que el cultivar "H" corresponde a *Rosmarinus officinalis* L. var. *genuina* de acuerdo con la clasificación de Turril, 1920 [76] (fig. 4),

Arbusto de 90 a 135 cm de altura. Hojas aromáticas, opuestas, lineares, coriáceas y de borde doblado, maduras llegan a medir de 10.7(21.8)39.4 mm de longitud y 1.4(2.1)3.2 mm de ancho, tomentosa por el envés (menos tomentosa que el romero "macho"). Flores dispuestas en racimos, la corola es bilabiada de color lila a azul pálido, el labio superior es cóncavo, mide de 7.8(10.01)12 mm de longitud y tiene 2 divisiones, el labio inferior mide de 5.5(7.4)9.6 mm de longitud y tiene tres divisiones; presenta 2 estambres exsertos y paralelos de color violeta pálido brillante, miden de 7.2(9.8)12.5 mm de longitud, el color de la antera varía de morado azulado y café; estilo exerto, puede ser curvo o recto de color violeta pálido brillante con una longitud de 12(17.7)20 mm; cáliz campanulado de 3.2(5.3)6.4 mm de longitud; pedicelo unido al cáliz de 22.7 (3.8) 5.7 mm de longitud.



Fig. 4. Cultivar de romero "H"

I.9.2. Descripción del romero "M".

El análisis de los caracteres morfológicos indicó que el cultivar "M" corresponde a *Rosmarinus officinalis* L. var. *genuina* de acuerdo con la clasificación de Turril, 1920 [76] (fig.5).

Arbusto de 80 a 100 cm de altura. Hojas aromáticas, opuestas lineares, coriáceas y de borde doblado, maduras llegan a medir de 12.8(21.5)31.5 mm de longitud y 1.8(2.9)4.3 mm de ancho, tomentosa por el envés (más tomentosa que el romero "hembra"). Flores dispuestas en racimos, la corola es bilabiada de color blanca a lila pálido; el labio superior es cóncavo, mide 7(9.2)11.7 mm de longitud y tiene 2 divisiones, el labio inferior mide de 5.3(7.1)9 mm de longitud y tiene tres divisiones; presenta 2 estambres exertos y paralelos de color blanco a lila pálido, miden de 2.9(10)13 mm de longitud estaminal, el color de la antera varía de morado azulado y café; estilo exerto, puede ser curvo o recto de color blanco a lila pálido con una longitud de 9(14.2)15.5 mm; cáliz campanulado de 4.5 (5.8) 6.8 mm de longitud; pedicelo unido al cáliz de 2(4.1)4.6 mm de longitud.



Fig 5. Cultivar de romero "M".

1.10. Caracteres morfológicos

Al analizar las poblaciones estudiadas con el método discriminante (realizado con los datos de los caracteres morfológicos que se encuentran en el anexo) se encontraron diferencias significativas entre los cultivares de romero "M" y "H" (Tabla 3). La discriminación entre el romero "M" y romero "H" fue significativa (Lambda de Wilks=0.26; $F_{1,184}=307.1$, $p<0.05$).

Los caracteres que más contribuyeron a la discriminación de los tipos de romeros fueron la longitud del estilo y el ancho de las hojas (Fig. 9. Tabla 3). El estilo, la longitud de hoja, pedicelo y estambre son los caracteres que permiten diferenciar a la población de romero "H", por otro lado el ancho de la hoja, el cáliz, labios inferior y superior son caracteres que permiten diferenciar al romero "M" (Tabla 3).

Tabla 3 Análisis discriminante, contribución independiente de cada variable en el modelo y su importancia relativa para la discriminación de las poblaciones.

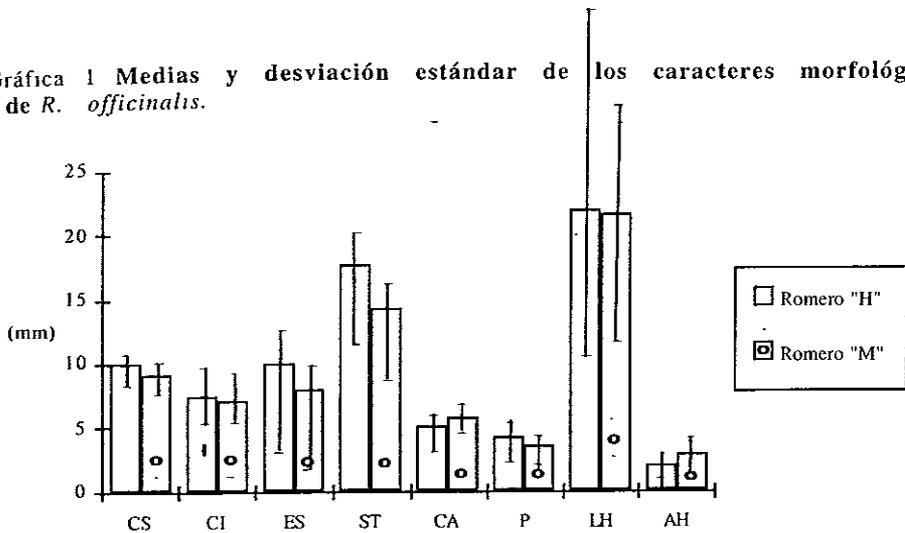
Caracter	Lambda deWilks'	Lambda parcial	F (1,184)	Nivel de significancia	Valor Discriminante*
Estilo	0.31955162	0.70492077	77.0222397	.000000	0.77682328
Ancho de hoja	0.28343749	0.79473811	47.5228043	.000000	-0.5336283
Cáliz	0.2471717	0.91134447	17.8995018	.000036	-0.3405207
Longitud de hoja	0.23008463	0.97902483	3.94211388	0.04857	0.16788335
Labio inferior	0.22930709	0.98234463	3.30697823	0.07061	-0.1436229
Pedicelo	0.22788866	0.98845893	2.14835358	0.14442	0.1301329
Estambre	0.22655839	0.99426275	1.06173992	0.30417	0.11459694
Labio superior	0.22481814	0.99804479	0.35850459	0.55007	-0.0644429

*Los positivos discriminan a los individuos "H" y los negativos a los individuos "M".

El análisis discriminante predice el ordenamiento de cada uno de los individuos asignándolos en una de las dos poblaciones. En un 94% los individuos "H" fueron ubicados en su población correspondiente, mientras que los individuos "M" lo fueron en un 98%, lo cual confirma que las poblaciones estudiadas poseen diferencias entre sí, con un bajo porcentaje de observaciones indeterminadas o clasificadas en un conjunto difuso.

El análisis de varianza realizado para cada uno de los caracteres estudiados, permitió apreciar las tendencias que se sugieren en el análisis discriminante para estos caracteres. Se obtuvo una alta diferencia significativa en los caracteres estilo, estambre y ancho de las hojas (tabla 4). La prueba de Tukey permitió reconocer que existen diferencias significativas entre las poblaciones de los romeros "M" y "H" para estos caracteres. Los estilos y estambres más largos se encuentran en los individuos "H", mientras que el ancho de las hojas fue mayor en los individuos "M" (tabla 4). El largo de hoja, no resultó relevante en la variabilidad de los cultivos. En la gráfica 1 se muestra el intervalo de variabilidad de los caracteres. Existe también una marcada correlación significativa ($p < 0.05$) entre los caracteres de la flor de ambos romeros. El tamaño de la corola se relaciona con el tamaño del estilo, estambre y el cáliz. Esto tiene importancia ya que las flores que presentan estambres estériles generalmente son flores más pequeñas como se verá más adelante. Estos resultados permiten confirmar que las poblaciones estudiadas se presentan como grupos diferenciados.

Gráfica 1 Medias y desviación estándar de los caracteres morfológicos de *R. officinalis*.



CS: Longitud de la corola; CI: Longitud del labio inferior; ES: Longitud filamento estaminal; ST: Longitud del estilo; CA: Longitud del cáliz.; P: Longitud del pedicelo; LH: Longitud de la hoja; AH: Ancho de la hoja.

** diferencias significativas ($p < 0.05$)

Tabla 4 Análisis de varianza de los caracteres estudiados de los cultivares de Romero "M" y "H".

Caracter	Fuente de variación	S. C.	G. L.	C. M.	F	p
Labio superior	Entre grupos	32.7525521	1	32.7525521	61.9359757	.000000
	Intra grupos	100.474479	190	0.52881305		
	Total	133.227031				
Labio inferior	Entre grupos	5.88	1	5.88	11.0016802	0.00109066
	Intra grupos	101.548125	190	0.53446382		
	Total	107.428125				
Estambre	Entre grupos	228.813333	1	228.813333	132.642713	.000000
	Intra grupos	327.756667	190	1.72503509		**
	Total	556.57				
Estilo	Entre grupos	573.046302	1	573.046302	332.32507	0.000000
	Intra grupos	327.627396	190	1.72435471		**
	Total	900.673698				
Corola	Entre grupos	26.6263021	1	26.6263021	76.5616945	.000000
	Intra grupos	66.0773958	190	0.34777577		
	Total	92.7036979				
Pedicelo	Entre grupos	21.2002083	1	21.2002083	50.021318	.000000
	Intra grupos	80.5264583	190	0.42382346		
	Total	101.726667				
Largo de hoja	Entre grupos	5.56921875	1	5.56921875	0.24912656	0.61826817
	Intra grupos	4247.44573	190	22.3549775		
	Total	4253.01495				
Ancho de hoja	Entre grupos	37.5417187	1	37.5417187	177.733035	0.000000
	Intra grupos	40.1328125	190	0.21122533		**
	Total	77.6745312				

** p<0.05 alta diferencia significativa.

I. 11. Fenología y sexualidad.

Existe en las dos poblaciones estudiadas un comportamiento fenológico diferente, el romero "H" presentó un periodo de floración más largo que el romero "M" en los dos años consecutivos (Tabla 5). El primero, inició la floración a finales del mes de mayo, antes que el segundo, que fue a mediados del mes de julio; la fructificación en el romero "H" comenzó desde mediados de septiembre hasta enero, en el romero "M" desde finales de octubre hasta enero.

La producción de flores, frutos y semillas llegó a darse simultáneamente en el mes de octubre, se pudieron observar botones, flores maduras, frutos y semillas de color café en ambos romeros.

El momento máximo de la floración del romero "H" fue en los meses de agosto, septiembre y octubre, mientras que en el romero "M" en los meses de septiembre y octubre; en noviembre disminuye la densidad de flores en las dos

poblaciones y a finales de noviembre y principios de enero las flores son escasas y en las ramas solo se observan frutos con un alto porcentaje de semillas vanas.

Tabla. 5 Fenología de los cultivares "M" y "H" en San Pablo Oztotepec, Milpa Alta D.F.

Etapa fenológica	Romero "M"	Romero "H"
Floración (inicio)	Julio	Mayo
Fructificación	Octubre a Diciembre	Septiembre a Diciembre
Floración (final)	Noviembre a Enero	Noviembre a Enero

Durante el periodo de floración, las poblaciones de romero "M" y "H" presentaron polimorfismo sexual, se pudieron observar en ambos romeros flores hermafroditas en toda la etapa de floración, individuos con flores hermafroditas y flores femeninas o masculinas estériles con estambres abortados, también se observaron flores con estambres de diferentes tamaños: uno corto y uno largo, estambres largos con anteras, estambres largos sin anteras. Cuando los estambres tenían anteras eran de color azul violeta o de color café. Las flores de los romeros "M" y "H" con estambres disfuncionales presentaban un menor tamaño que las flores hermafroditas (tabla 6). Este comportamiento sexual ya ha sido estudiado en las poblaciones de España por Ubera-Jiménez e Hidalgo Fernández (1992) quienes señalan que *R. officinalis* presenta ginodioicismo temporal [27].

Tabla 6. Tamaño de las flores con estambres disfuncionales de los romeros "M" y "H".

Romero	Pedicelo	Cáliz	Labio Sup	Labio inf	Estilo	Estambre
M	2.7	5	7	5.2	8.2	2
H	3	4.4	8.2	7.5	12	2.8

L.12. Descripción del polen de los cultivares "M" y "H".

Se encontraron dos tipos de granos de polen en las flores de los cultivares de romero "M" y romero "H", el polen normal y el polen colapsado. En el romero "H" el polen colapsado se cuantificó en un 16%, y en el romero "M" en un 27%.

1.12.1 Polen del Romero "M".

Polen esferoidal de 40.17 x 40.25. P/E=.99. Vista polar: elíptica de 41.2X45.5. Exina de 2 Micras de grosor; sexina 1.5 micras y nexina 0.5 micras. Semitectada, microreticulada. Hexacolpado; colpos con membranas ligeramente granuladas. Distancia entre los colpos opuestos 12 (13.2) 15. Índice del área polar 5 (6.6) 8.4 (Fig. 6).

1.12.2 Polen del Romero "H".

Polen esferoidal de 40.37 x 44.6. P/E=.90. Vista polar: elíptica de 41.9X47.6. Exina de 2 Micras de grosor; sexina 1.5 micras y nexina 0.5 micras. Semitectada, microreticulada. Hexacolpado; colpos con membranas ligeramente granuladas. Distancia entre los colpos opuestos 12 (14.7) 18. Índice del área polar 6 (6.7) 8. (Fig. 6).

1.12.3. Análisis estadístico. Polen

Al analizar el polen con el método discriminante (realizado con los datos de los caracteres morfológicos de polen que se encuentran en el anexo). Se encontraron diferencias significativas entre el polen de romero "M" y romero "H" (Wilks' Lambda: .54701 aprox. $F(2,77)=31.882$ $p < .0000$). Sólo la medida de vista ecuatorial eje ecuatorial (VEE) y colpos opuestos (COOP) resultaron importantes en la discriminación de los grupos, y fueron los caracteres que más contribuyeron a la discriminación de los tipos de polen de los romeros "M" y "H" (tabla 7).

Tabla 7. Análisis discriminante y contribución independiente de cada variable en el modelo. Polen

Caracter	Lambda de Wilks'	Lambda Parcial	F (1,77)	p
VEE	0.73275864	0.74651277	26.1462593	0.000002
COOP	0.62137967	0.8803212	10.4680738	0.00179106
VIPDIMA	0.53237593	0.97324061	2.0896306	0.15241298
VPDIME	0.54357928	0.99372149	0.48018196	0.49045208
COAD	0.54690427	0.99979997	0.01520556	0.90218645
VEP	0.54578924	0.99776161	0.1704995	0.6808309

VEE: Vista ecuatorial, eje ecuatorial; VEP: Vista ecuatorial, eje polar; VIPDIMA: Vista polar, diámetro mayor; VIPDIME: Vista polar diámetro menor; COOP: Colpos opuestos; COAD: Colpos adyacentes.

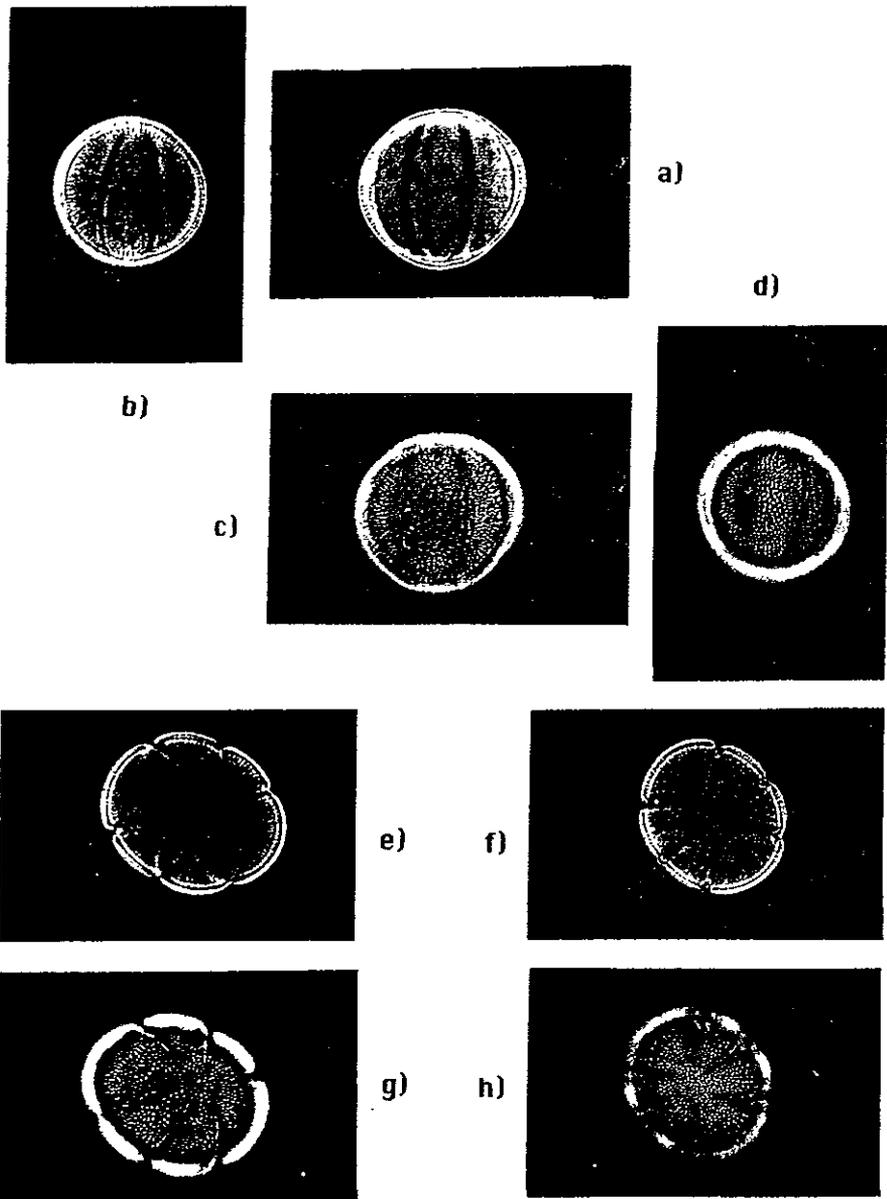


Fig. 6 Granos de polen de *R. officinalis* L. Cultivares de romero " **н** " y romero " **м** ". **a)** r. " **н** " vista ecuatorial. exina. 100x **b)** r. " **м** " vista ecuatorial. exina. 100x **c)** r. " **н** " vista ecuatorial. ornamentación. 100x. **d)** r. " **м** " vista ecuatorial. ornamentación. 100x **e)** r. " **н** " vista polar. exina. 100x. **f)** r. " **м** " vista polar. exina. 100x. **g)** r. " **н** " vista polar. ornamentación. 100x. **h)** r. " **м** " vista polar. ornamentación. 100x.

En un 100% el polen de los individuos "H" y "M" fueron ubicados en su población correspondiente lo que confirma la diferencia en el tamaño del radio ecuatorial del polen entre los romeros "M" y "H".

En la tabla 8 se presenta el análisis de varianza para los caracteres relacionados con las dimensiones de los granos de polen de los cultivares romero "M" y romero "H". Como se puede observar, las mediciones con alta diferencia significativa fueron Vista ecuatorial, eje polar (VEE) y distancia de colpos opuestos (COOP), con diferencia significativa vista polar, diámetro mayor (VIPDIMA), vista polar diámetro menor (VIPDIME) y colpos adyacentes (COAD) y con nula diferencia significativa vista ecuatorial, eje polar (VEP). En la gráfica 2 se presenta las medias y la desviación estándar para los caracteres evaluados. Con la prueba de Tukey se encontraron diferencias significativas de las mediciones Vista ecuatorial, eje ecuatorial (VEE) y distancia de colpos opuestos (COOP). Los granos de polen del romero "H" tienen mayor longitud en vista ecuatorial (eje ecuatorial) y distancia de colpos opuestos, con respecto del romero "M", lo cual significa que el romero "H" presenta un mayor radio ecuatorial del polen.

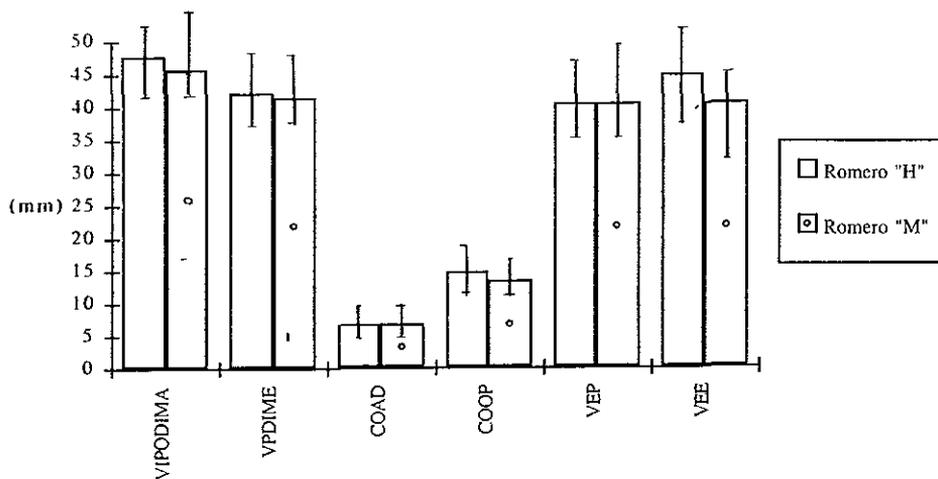
Tabla 8 Análisis de varianza de los caracteres relacionados con las dimensiones del polen.

Caracteres	Fuente de variación	SC	G.L.	CM	F	p
VIPDIMA	Entre grupos	187.35	7	26.7642857	3.60731668	0.00219221
	Intra grupos	534.2	72	7.41944444		
	Total	721.55				
VPDIME	Entre grupos	92	7	13.1428571	2.43136103	0.02707228
	Intra grupos	389.2	72	5.40555556		
	Total	481.2				
COAD	Entre grupos	12.95	7	1.85	3.84971098	0.00130895
	Intra grupos	34.6	72	0.48055556		
	Total	47.55				
COOP	Entre grupos	87.2	7	12.4571429	9.68589941	0.0000000
	Intra grupos	92.6	72	1.28611111		*
	Total	183.4				
VEP	Entre grupos	17.95	7	2.56428571	0.29213382	0.95495201
	Intra grupos	632	72	8.77777778		
	Total	649.95				
VEE	Entre grupos	564.75	7	80.6785714	13.359837	0.0000000
	Intra grupos	434.8	72	6.03888889		*
	Total	999.55				

VIPDIMA: Vista polar, diámetro mayor; VIPDIME: Vista polar diámetro menor; COAD: Colpos adyacentes; COOP: Colpos opuestos; VEP: Vista ecuatorial, eje polar; VEE: Vista ecuatorial, eje ecuatorial

* $p < 0.05$ alta diferencia significativa.

Gráfica 2. Medias y desviación estándar de los caracteres morfológicos evaluados en polen.



VIPDIMA: Vista polar, diámetro mayor; VIPDIME: Vista polar diámetro menor; COAD: Colpos adyacentes; COOP: Colpos opuestos; VEP: Vista ecuatorial, eje polar; VEE: Vista ecuatorial, eje ecuatorial.

* $p < 0.05$ alta diferencia significativa.

II. QUÍMICA

TERPENOS DE *R. officinalis* L. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

II.1. Aceites esenciales o volátiles.

Los aceites esenciales, antes definidos por los antiguos alquimistas como el alma de la planta, son complejas mezclas de compuestos orgánicos volátiles, que se encuentran principalmente en las familias Asteraceae, *Matricaria*; Lamiaceae, *Mentha* spp., Myrtaceae, *Eucalyptus*, Pinaceae, *Pinus*, Rosaceae, *Rosa* spp.; Rutaceae, *Citrus*; Umbelliferae, *Pimpinella*; Lauraceae, *Laurus* y Zingiberaceae, *Alpinia*; Brassicaceae, *Brassica* spp. [9,38,45,111,115].

Se les denomina aceites debido a algunas similitudes en sus propiedades físicas y químicas con los aceites verdaderos, como es su baja densidad, su aspecto, su solubilidad. Sin embargo, se distinguen de estos (aceites fijos) por ser arrastrables por medio del vapor de agua, de donde reciben el nombre de volátiles, así como por la diversidad de sus constituyentes, ser sustancias no untuosas al tacto, su color es muy variado y generalmente son solubles en alcohol. Los aceites esenciales de consistencia líquida al ponerse sobre papel, dejan una mancha que desaparece con el tiempo [34,106].

Los aceites esenciales se pueden encontrar en todos los órganos vegetales: en las flores (huizache, jazmín), hojas (romero, toronjil, laurel), raíces (vetiver), rizomas (jengibre), leños (sándalo), cortezas (canela), frutos (anís, anís estrella), semillas (nuez moscada) [5,34,111,115]. En estos órganos el contenido de aceites esenciales es inferior al 2%, con algunas excepciones como los botones florales del clavo que llega incluso al 15% [9].

La síntesis y acumulación de un aceite esencial, generalmente está asociada a la presencia de estructuras histológicas especializadas que se localizan en sitios específicos de otros tejidos, por lo general, sobre o en la proximidad de la superficie de la planta. Estas estructuras especializadas pueden ser células con aceites esenciales (Lauráceas, Zingiberáceas); tricomas glandulares (Lamiáceas); bolsas o cavidades secretoras (Mirtáceas, Rutáceas) o canales secretores (Asteráceas) [5,9,38,52].

La función biológica de los aceites esenciales es un tema abierto: pueden actuar como hormonas reguladoras o catalizadores, o bien refrescar el entorno de la planta proporcionándole un filtro solar en su parte aérea [56]. En cuanto a su papel ecológico se ha señalado que la volatilidad y el marcado olor de los aceites esenciales, constituyen los elementos de la comunicación química en las posibles interacciones planta-animal, planta-planta y planta-microorganismos. Están implicados en procesos como la polinización y dispersión [19], y son

considerados un medio de defensa frente a depredadores (microorganismos, hongos, insectos, herbívoros) [83, 107], o bien pueden actuar como atrayentes de predadores y parasitoides [105], además de interferir en el desarrollo de otras plantas competidoras (alelopatía) [84,89].

Químicamente los aceites esenciales son mezclas complejas y muy variadas de sustancias orgánicas olorosas pertenecientes a dos series caracterizadas por orígenes biosintéticos distintos: la serie terpénica derivada biogenéticamente del ácido mevalónico y basada en la molécula del isopreno, y la serie de los compuestos arénicos derivada del fenilpropano, esta última es menos frecuente [9,35,38]. En los aceites esenciales únicamente se encuentran los terpenos más volátiles: monoterpenos y sesquiterpenos, constituidos por 10 y 15 átomos de carbón. Los mono y sesquiterpenos difieren en volatilidad y punto de ebullición, los primeros tienen un punto de ebullición entre 140 y 180 °C y los segundos >de 200 °C [38,115]. Los monoterpenos están constituidos principalmente de hidrocarburos acíclicos, monocíclicos y bicíclicos, acompañados de sus derivados oxigenados: alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres [9,39,115]. Los sesquiterpenos también están agrupados dependiendo del esqueleto básico del carbón, y los más comunes son los acíclicos, monocíclicos y bicíclicos [9,39,115].

La técnica de cromatografía de gases es la más importante en el estudio de los aceites esenciales. Cuando un conjunto de compuestos se encuentra frecuentemente en un grupo particular de plantas, las variaciones cuantitativas de estos compuestos son significativas en un análisis quimiotaxonómico [38,115].

Actualmente se reconoce la existencia de factores que contribuyen a la variabilidad de los aceites esenciales: a) origen botánico, aunque resulte evidente, la composición de un aceite esencial está en función de la especie productora [9]; b) quimiotipo, en plantas con aceites esenciales es frecuente encontrar razas químicas o encontrar diferencias químicas en los cultivares de una especie, a los que se reconoce como quimiocultivares [45,115]; c) ciclo vegetativo, la proporción de los componentes del aceite esencial llega a variar a lo largo de su desarrollo; d) factores ambientales, suelo, exposición al sol, temperatura, balance de nutrientes, prácticas de cultivo [36]; e) métodos de extracción [1,36].

Por su amplia variabilidad los aceites esenciales han sido objeto de controversia en las discusiones acerca de su relevancia en la taxonomía de las plantas. En los últimos diez años se ha reconocido su validez en la clasificación de algunas familias, es el caso de la familia de las Lamiáceas en el que los aceites esenciales son compuestos con un alto significado taxonómico [58]. Tal es así que esta familia tiene dos subfamilias separadas por presentar géneros ricos en aceites (Nepetoideae) y géneros pobres en aceites (Lamioidea) [58]. Además contribuyen a establecer diferencias a nivel infraespecífico [85].

II.2. Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L.

Antiguamente, los Romanos llamaban al romero flor de mar y Linneo cuenta que los marmeros del mediterráneo llegaban a percibir el aroma del Romero antes que ellos pudieran ver la tierra.¹

El romero presenta una amplia variabilidad en su expresión aromática. Ya sea cultivado o silvestre muestra diferencias cualitativas y cuantitativas de los componentes de sus aceites esenciales (tabla 9). Se distinguen diversas razas químicas o quimiotipos de acuerdo al esqueleto básico del carbón (Granger, *et al.* (1973)*cit. in.* [1], o bien, con base en sus compuestos mayoritarios [59,60,61,85] (cuadro 5).

Cuadro 5. Quimiotipos reconocidos del romero.

Granger, *et al.* (1973) *op. cit.*, propone la existencia de 4 quimiotipos del romero:

- 1) el tipo 1,8-cineole o eucalyptol
- 2) el tipo camphor-borneol;
- 3) el tipo α -pinene-verbenone;
- 4) el tipo myrcene.

Tucker y Maciarelo, (1986) agrupan los cultivares de Estados Unidos Americanos, Canadá e Inglaterra en 6 quimiotipos [60].

- 1) α -pinene > 1,8-cineole;
- 2) 1,8-cineole > α -pinene;
- 3) α -pinene > camphor + camphene > 1,8-cineole;
- 4) camphor + camphene > α -pinene > 1,8-cineole;
- 5) camphor + camphene > 1,8-cineole > α -pinene
- 6) borneol + bornyl acetate > camphor.

Además de los quimiotipos propuestos se siguen encontrando combinaciones diferentes de los constituyentes mayoritarios de los aceites esenciales, lo que permite sugerir nuevos quimiotipos [88].

Tabla 9. Composición química comparativa del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. en diversos países de Europa y América.

Origen geográfico	α -pinene	myrcene	1,8-cineole	camphor	borneol	verbenone	ref.
Francia	19.91a 35.08	1.55 a 2.12	5.3 a 24.79	3.01 a 7.50	3.24 a 6.53	1.03 a 5.08	[61]
España	17.74 a 24.5	1.71 a 2.48	19.8a22.97d	18.54 a 22.8	1.77 a 2.10	-	[95]
España	16 a 23.8	t a .6	10.2 a 23.5	5.2 a 31.1	1.6 a 8.1	t a 7.2	[59]
España	24.70	4.90	18.96	16.32	4.53	-	[61]
España	30 a 50	2 a 3	3 a 8	6 a 20	-	3 a 6	[85]
Italia	32.3	4.7	17	5.4	-	-	[4]
Turquía	4.18 a 11.47	0.61 a 1.90	18.16a 40.57	14.57 a 23.0	5.63 a 11.15	0 a 15.58	[97]
Hungría	24.9 f	-	20.1	14.7	3	0.8	[86]
Marruecos	9.56 a 12.72	0.68 a 1.60	43.53 a 57.7	7.42 a 10.80	2.97 a 4.51	0 a 0.46	[61]
Portugal	6.9	19.2	20.5	0.2	-	-	[10]
Grecia	10.3	-	51.2	5.5	4.7	-	[96]
Túnez	8.6 a 11.4	1.1 a 1.4	47.6 a 55.1	6.4 a 14.8	3.4 a 12.1	t	[98]
EUA	0.06 a 57.45	0.14 a 11.53	3.55 a 42.69	0.20 a 56.45	0.40 a 14.69	-	[60]

t trazas

d 1,8 cineole+ β phellandrene

f α pinene+camphene

II.2.3. Extracción del aceite esencial del romero.

El método clásico de aislamiento del aceite esencial del romero es por arrastre de vapor de las ramas con hojas o sólo las hojas. Un excelente aceite de romero es obtenido de las hojas frescas [1]. En la mayoría de los países la extracción se realiza con planta fresca y el tiempo de destilación varía de 30 a 240 minutos [1]. Entre mayor tiempo de destilación, mayor contenido de sesquiterpenos [1]. Existe una relación lógica entre la dimensión del aparato de destilación y la cantidad de la planta que va a ser destilada [38].

II.2.4. Técnica *headspace*.

La técnica *headspace* ha sido usada exitosamente desde 1977 para la preparación de la muestra. *Headspace* es un término usado para describir los vapores formados por líquidos o sólidos, y actualmente es considerado como un método de rutina en la mayoría de los laboratorios que trabajan con constituyentes volátiles de los aromas [99]. Con este método se puede trabajar en fresco y seco, usando cantidades mínimas de material vegetal y las diferencias en los compuestos emitidos por los diferentes órganos de la planta pueden ser detectados, así como las variaciones fenológicas pueden ser registradas [116]. El análisis de *headspace* consiste de dos métodos, uno dinámico y otro en vacío [116,117]. Dinámico: los compuestos volátiles liberados por la planta mediante presión y temperatura, son purgados por un

gas. En una siguiente etapa los compuestos volátiles concentrados son arrastrados a una columna para su separación e identificación [116,117]. Vacío es similar a un arrastre de vapor, el material vegetal se somete a vacío y los compuestos volátiles se arrastran junto con el agua contenida en la planta y son condensados a baja temperatura [116,117], tiene mayor preferencia en aplicaciones de perfumería [117]. El análisis de *headspace*, contribuye en la clasificación de plantas aromáticas [116]. Para un mayor detalle sobre la teoría de operación de *headspace* consulte referencias 149 y 150.

II.2.5 Propiedades fisicoquímicas del romero

Las propiedades fisicoquímicas tales como la gravedad específica, la rotación óptica, el índice de refracción y la solubilidad en alcohol al 80 y 90 %, fueron propuestas en los años 60's para verificar si un aceite era realmente natural o si estaba reconstituido o adulterado. Estas propiedades fisicoquímicas forman parte de los parámetros de estandarización de la calidad de los aceites esenciales [63].

Densidad Específica

La densidad específica es inversamente proporcional a la cantidad de monoterpenos que contenga. Los valores reportados en literatura [61,62,63] indican que la gravedad específica del aceite esencial del romero está alrededor de 0.860 a 0.9208. Clasificando estos datos, actualmente se distinguen los aceites de baja densidad menor o igual a 0.9 y los de alta densidad mayores a 0.9 [61] (tabla 10).

Índice de Refracción

El índice de refracción es una aproximación del total de monoterpenos y sus derivados oxigenados. Un alto contenido de monoterpenos da un alto índice de refracción, mientras que un alto contenido de derivados oxigenados se traduce en un índice de refracción bajo [1]. En el caso del romero el índice de refracción está alrededor de 1.4659 a 1.4783, dependiendo de su origen (tabla 10).

Rotación Óptica

La rotación óptica del aceite esencial del romero de acuerdo con datos reportados en la literatura [61,62,63], indican que ésta puede variar desde $-0^{\circ}58'$ a $+ 25^{\circ}$ (tabla 10), la mayoría de las veces depende de compuestos como α -pinene, camphene y camphor [1].

Tabla 10. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. de diferentes orígenes

Origen	n_D	d_{20}	α_D	Ref.
Marruecos	1.4695-1.4740	0.910-0.917	-1.18°; +0.612°	[61]
España	1.4696-1.4770	0.900-0.902	-3.80°; +0.98°	[61]
Francia	1.4723-1.4728	0.906-0.920	+10.50°; +15.34°	[61]
Norte Africa	1.467-1.474	0.908-0.920	-1° a +6°	[63]
España	1.467-1.474	0.895-0.905	-3° a +10°	[63]
Portugal	1.466-1.475	0.860-0.880	+4° a +25°	[63]
Francia	1.467-1.474	0.895-0.916	-1°; +16°	[63]
España	1.4682-1.4712	0.893-0.910	-0°58'; +11°32'	[62]
Túnez	1.4681-1.4783	0.907-0.9165	+5°; +10°	[1]
Italia	1.4659-1.470	0.8988-0.9208	-2°; +21.5°	[1]
Italia	1.4668-1.476	0.8943-0.9161	+17.68°; +23.33°	[4]

n_D =Índice de refracción

d_{20} =Densidad específica

α_D =Rotación óptica

II.2.6 Composición Química del Aceite Esencial del romero

Actualmente, en la composición química del aceite esencial del romero se han detectado cerca de 200 constituyentes [1]. Dentro de estos los hay alifáticos, monoterpenos: alcoholes, cetonas, éteres, ésteres y sesquiterpenos.

Compuestos alifáticos.

Los compuestos más ligeros del aceite esencial del romero son los alifáticos algunos de los cuales son el 2-3- methyl-butanal octanone-3, 3-octanol y 1-octen-3-ol; su contenido normalmente es bajo (0.1 %) [1].

Monoterpenos.

Han sido identificados diversos monoterpenos en el aceite del romero, estos compuestos juegan un papel importante en su calidad olfativa, su contenido varía de 20 a 75% [1].

Monoterpenos acíclicos: myrcene, ocimene; monocíclicos: limonene, α y γ terpinene, p- cymene; bicíclicos: α y β pinene, 3 carene, camphene.

Alcoholes. Acíclicos: linalool, geraniol; monocíclicos: α -terpineol, terpinen-4-ol; bicíclicos: borneol.

Cetonas. Camphor; verbenone.

Esteres. Bornyl acetate.

Eteres. 1,8 cineole, también conocido como eucaliptol, es usado como un indicador en la clasificación del aceite esencial del romero formándose dos grupos principales: con alto contenido de 1,8 cineole (>40%) y con bajo contenido de 1,8 cineole (<40 %) [61].

Sesquiterpenos

Cerca de 30 sesquiterpenos han sido identificados en el aceite de romero, siendo los compuestos caryophyllene oxide y humulene los más abundantes [1]. El contenido de los sesquiterpenos puede variar desde 2% hasta 8% [1].

11.2.7. Cualidades sensoriales del romero.

Las hojas del romero son fuertemente aromáticas (reminiscencia del camphor y eucaliptol), con sabor resinoso y ligeramente amargo [47,50]. El aroma del aceite del romero es definido de la siguiente manera: presenta una nota alta de hierba fresca, de tenacidad limpia y una salida maderable-balsámica seca [1]. Las notas pueden ser una mezcla de compuestos o un solo compuesto que se combinan con otras notas o compuestos para elaborar perfumes o esencias [130].

Boelens (1985) resume las propiedades olfativas que describen cualitativamente el olor del aceite esencial del romero español y sus posibles causas [1] (tabla 11).

Tabla 11. Descripción cualitativa del aceite esencial del romero Español*

Calidad del olor	Posible causa
Nota alta	
fresca, etérea	alifáticos
áspera	monoterpenos
frutal	acetatos (ésteres)
Nota media	
verde	componentes residuales
fresco, menta, eucaliptol	1,8 cineole
coníferas	borneol
alcanforado	camphor
hierba	verbenone
Nota baja	
aroma dulce	sustancias bencenoides
semejante al heno	α - y β - thujone
maderoso-balsámico	sesquiterpenos

*Tomado de Boelens (1985) [1].

II.2.8 Propiedades Farmacológicas. Actividad antimicrobiana del aceite esencial del romero.

El aceite esencial del romero presenta una amplia actividad farmacológica [1,2,5,37,51,73,94,132,134,]. La actividad antimicrobiana del aceite esencial del romero ha sido examinada con bacterias gram⁺ (*Staphylococcus aureus*, *S. albus*), gram⁻ (*Escherichia coli*,) y con hongos (*Aspergillus niger*, *A. ochraceus*, *Candida albicans* y *Fusarium culmorum*), y se ha comprobado que tiene actividad antibacteriana y antifúngica [53,86,87,88,131,132,133,Narashimha y Nigam (1970), *cit. in.* 21].

Dentro de la aromaterapia, definida como el uso terapéutico de aceites volátiles y fragancias para curar, mitigar o prevenir enfermedades mediante su inhalación [135], las propiedades del aceite esencial del romero son: estimulante, refrescante, tónico cardíaco, tónico bronquial y se usa en la fatiga muscular y mental, resfriados, mala circulación y dolores de cabeza [118]. En la medicina folk el aceite es usado como remedio contra la fatiga [73].

Las cetonas monoterpenoides son relevantes en la aromaterapia ayudan a disminuir o aumentar el flujo mucoso y se usa en fármacos para problemas respiratorios; los ésteres monoterpenoides tienen propiedades antifúngicas y sedantes; los alcoholes monoterpenoides son tonificantes y antisépticos; los fenoles son los agentes antibacterianos más fuertes [71]. Actualmente se conocen los efectos de los monoterpenos y sesquiterpenos aislados. Algunos de estos compuestos como el camphor, 1,8-cineole, bornyl acetate, linalool, borneol, myrcene, p-cymene presentan propiedades antibacterianas (tabla 12).

Tabla 12. Propiedades medicinales y antimicrobianas de algunos constituyentes del Aceite esencial de *R. officinalis* L.

COMPUESTO	ACTIVIDAD
1,8-CINEOLE.	Anestésico*; Antibronquítico; Anticatarro; Antilaringítico; Antifaringítico; Antiséptico; Antitusivo; <u>Bactericida</u> ; Estimulante del SNC; Colerético; Expectorante; Fungicida; Hepatotónico; Hipotensivo, Rubefaciente; Sedativo.
ALPHA-PINENE	Antiinflamatorio; Preventivo-cáncer.
BETA-PINENE	Plaguicida.
BORNEOL	Analgésico; Antiinflamatorio; Febrífugo; Hepatoprotector; Espasmolítico, <u>Bactericida</u>
BORNYL-ACETATE	Antiviral; <u>Bactericida</u> ; Pesticida; Espasmolítico; Viricida.
CAMPHENE	Pesticida; Espasmogénico.
CAMPHOR	Abortifaciente; Analgésico; Anestésico; Antifibrosítico; Antineurálgico; Antiprurítico; Antiséptico; <u>Bactericida</u> ; Estimulante del SNC; Preventivo-cáncer; Carminativo; Convulsivante; Emético; Expectorante; Pesticida; Rubefaciente; Espasmolítico; Estimulante.
β-CARYOPHYLLENE	Antiedémico; Antiinflamatorio; Plaguicida; Espasmolítico.
CARYOPHYLLENE-OXIDE	Antiedémico; Antiinflamatorio.
LIMONENE	Anticancerígeno; Antiviral; <u>Bactericida</u> ; Preventivo-cáncer; Pesticida; Sedativo; Espasmolítico; Viricida.
LINALOOL	Antiséptico; Antiviral; <u>Bactericida</u> ; Preventivo-cáncer; Fungicida; Pesticida; Sedativo; Espasmolítico; Promotor de tumores; Viricida.
MYRCENE	Antimutagénico; <u>Bactericida</u> ; Pesticida; Espasmolítico; Analgésico*
P-CYMENE	Analgésico; Antireumático; Antiviral; <u>Bactericida</u> ; Fungicida; Herbicida; Plaguicida; Viricida.
TERPINEN-4-OL	Antialérgico; Antiasmático; Antiséptico; Antitusígeno; <u>Bacteriostático</u> ; Fungicida; Herbicida; Plaguicida; Espermicida

Información recabada del Dictionary of Natural Products on CD-Rom, 1998.

[104].

*Duke,1995. [71]

Algunas bacterias de interés en la salud pública.

En México, las enfermedades que con mayor frecuencia se atienden, según estadísticas del IMSS, son las gastrointestinales, las cuales están asociadas con algún tipo de infección bacteriana. Los padecimientos bacterianos destacan por su frecuencia, gravedad y diversidad, algunos ejemplos son las numerosas intoxicaciones alimentarias relacionadas con la ingestión de toxinas liberadas en los alimentos y en las fórmulas lácteas por especies como *Staphylococcus aureus* o el caso de las enteritis y gastroenteritis debidas a diversos grupos de *Escherichia coli* entre otras [113].

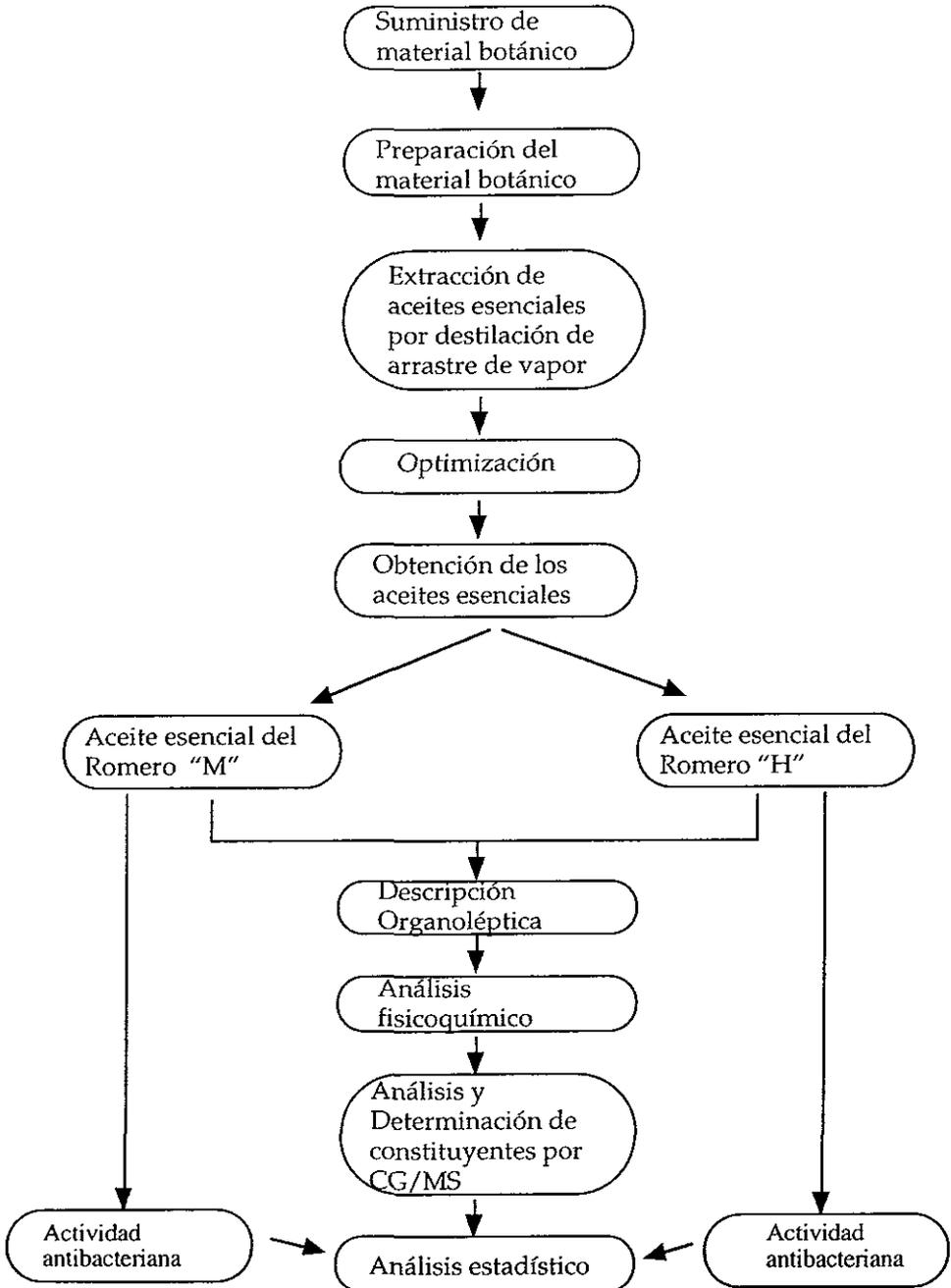
Staphylococcus aureus es un coco gram⁺ que produce inflamaciones y supuraciones en todos los órganos y tejidos del cuerpo, ocasionando desde lesiones mínimas localizadas, hasta infecciones generalizadas de evolución

muy aguda y crónica dando lugar a inflamación, necrosis y formación de abscesos [109].

Escherichia coli es una bacteria gram⁻. Habitante normal del aparato intestinal inferior. Las cepas patógenas llegan a producir infecciones en el conducto urinario y diarreas [109].

Mycobacterium smegmatis es una bacteria ácido resistente, de rápido crecimiento, habitante normal en el conducto genitourinario humano, y se le encuentra presente en la mantequilla y el esmegma [109]. La importancia del estudio de esta bacteria radica en su relación con la bacteria de la tuberculosis *M. tuberculosis* (Taboada, J. com pers).

Diseño Experimental



En el diseño experimental se esquematiza la secuencia de actividades realizadas para la obtención, identificación y prueba de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de los romeros "M" y "H".

Suministro de material botánico.

El material botánico se obtuvo en San Pablo Oztotepec, Milpa Alta, D.F. (*supra* área de estudio. mapa 1). Los ejemplares de herbario fueron depositados en el Herbario de la Universidad Autónoma de México (MEXU) con número de registro del 846428 al 846434 y en el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano de Seguro Social (IMSSM) con número de registro del 12785 al 12794.

En la primera colecta realizada a inicios de octubre de 1997, los romeros "M" y "H" se encontraban en floración y con 90 cm de altura promedio; la segunda colecta se realizó a principios de octubre de 1998 y los arbustos también estaban en floración, la tercera colecta se llevó a cabo a finales de noviembre del mismo año, la floración había disminuido notablemente y todos los individuos de las poblaciones de romero "M" y "H" presentaban nuevo crecimiento propiciado por los cortes de la segunda colecta. El material botánico se trabajó en fresco y en seco, en la tabla 13 se especifican las colectas, la parte de la planta que se empleó, el periodo fenológico de la planta, el método de extracción y preparación de la muestra y el número de muestras realizadas para cada caso, siendo veinticuatro muestras en total para ambos cultivares.

Tabla 13. Resumen del número de colectas, parte de la planta utilizada, periodo fenológico y número de muestras.

Num de colecta	Parte de la planta usada en la destilación	Periodo fenológico	Método de extracción	Num de muestras
1 ^a oct/97	hojas y flores frescas	Floración plena	Arrastre de Vapor Planta piloto.	1
2 ^a oct/98	hojas y flores frescas	Floración plena	Arrastre de Vapor laboratorio	4
	hojas y flores secas	Floración plena	Arrastre de Vapor laboratorio	1
	hojas y flores secas	Floración plena	<i>headspace</i>	1
3 ^a nov/98	hojas frescas	Final de la floración	Arrastre de Vapor laboratorio	3
	hojas frescas	Final de la floración	<i>headspace</i>	2

Preparación del material botánico.

De los cultivares frescos de los romeros "M" y "H", se separaron manualmente las hojas de los tallos. Los romeros frescos se pusieron a secar a temperatura

ambiente y sin exposición a la luz directa del sol, una vez secos, las hojas también fueron separadas manualmente de los tallos.

II.3. Extracción de los aceites esenciales mediante arrastre de vapor de agua.

El aceite esencial de los dos cultivares colectados en octubre de 1997, fue obtenido por arrastre de vapor en la planta piloto de la Unidad de Desarrollo Tecnológico en el Instituto de Química, UNAM

Se utilizaron en la destilación hojas frescas de romero "H" (3500g) y romero "M" (2200g) y las condiciones fueron las siguientes:

Velocidad de destilación 5' 32" por litro

Duración de la destilación 2 hrs. 35 min.

Temp Cte. 90 °C

Presión .2 kg/Cm²

Para el caso de la segunda y tercera colecta las extracciones se realizaron instalando un equipo para arrastre de vapor (Fig. 7) formado por una olla de presión Presto con capacidad de 1.5 Kg (A), un matraz de Erlenmeyer de 1 litro (B) 2 refrigerantes de destilación Liebig-West (C) una estufa eléctrica Thermolyne (D), una cola de destilación (E), una trampa graduada (F), un mechero Fisher (H), un gato hidráulico (I), 5 mangueras (J, J1-4), un recipiente de peltre para baño maría (K), 3 soportes universales (L).

Se inyectó vapor al sistema por medio de la olla de presión que estaba conectada por medio de una manguera (J) a uno de los orificios del tapón del matraz que contenía la planta, este matraz estaba sumergido en baño maría para evitar la condensación del vapor de agua (K). El flujo de vapor salía a través de un tubo de vidrio (M) que estaba conectado a los refrigerantes. Una vez condensado el vapor de agua, el líquido descendía hacia la cola de destilación y a la trampa, la trampa cuenta con un dispositivo de recirculación del agua que ha sido destilada hacia el matraz de destilación, esto permitió la separación del aceite y del agua por diferencia de densidades. Se cuantificó el aceite obtenido y se midió la velocidad de destilación. Cuando no se dispuso de la trampa, en su lugar se colocó una bureta graduada sin que esto modificara el proceso, pues era posible regular la salida del flujo de agua destilada.

Optimización. Ensayos preliminares

Al inicio se realizaron ensayos preliminares para obtener las condiciones óptimas de extracción de aceites esenciales de los dos cultivares. Se comenzó con 45g de planta fresca contenida en un matraz de Erlenmeyer de 250 ml. Obteniéndose 0.1 ml de aceite esencial. La destilación era suspendida a ratos porque la presión de vapor botaba el tapón del matraz que contenía la planta. Se cambió el matraz de 250ml por uno con capacidad de 1 litro, esto permitió usar mayor cantidad de planta y a su vez un mayor espacio que facilitaba el flujo del

vapor evitando la expulsión del tapón. También se probó con un condensador de Graham, el inconveniente de su uso fue que la mayor parte del aceite esencial quedaba adherido en el serpentín del refrigerante, por lo que se utilizaron 2 refrigerantes de destilación Liebig-West ya que uno solo no era suficiente para llevar a cabo la condensación, además se colocaron encima de éstos bolsa con hielo para hacer más eficiente el enfriamiento.

Condiciones del Arrastre de Vapor.

Una vez establecido el equipo definitivo para el arrastre de vapor, se hicieron pruebas en los tiempos y la velocidad de destilación. Encontrando óptima la duración de destilación de 32 min. y una velocidad de destilación de 50ml/5 min a una temperatura constante de 92 °C.

Se destilaron cargas de 200 g de hojas y flores frescas y secas en floración y hojas frescas final de la floración.

Los aceites esenciales obtenidos fueron almacenados en pequeños frascos que se depositaban en un recipiente oscuro y puestos en refrigeración hasta el momento de su análisis.

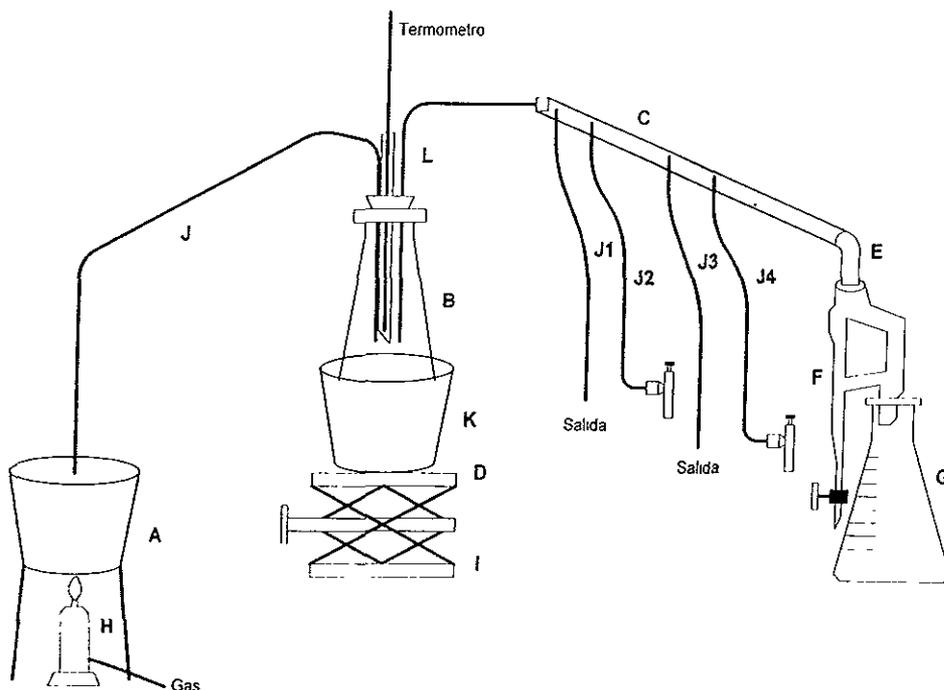


Fig.7. Equipo empleado para la extracción de los aceites esenciales de los cultivares "M" y "H" de *R. officinalis* L.

II.4 . Análisis de aceites esenciales por *headspace*.

Se utilizó el método de *headspace* dinámico ya descrito anteriormente (*supra* II.3.). Con este método fue estudiada la cuarta colecta, en el Laboratorio de Investigación Analítica de la Empresa Essencefleur de México S.A. de C.V. con un equipo Hewlett Packard Modelo G1800A. La muestra fue obtenida con 5 g de material botánico fresco y seco. El equipo y las condiciones operativas se especifican más adelante.

II.5 . Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de masas.

La identificación de los componentes del aceite esencial y de la muestra obtenida con *headspace* fue realizado en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Los espectros de masas fueron comparados con los espectros de los estándares, y reconocidos por la biblioteca de compuestos del equipo utilizado. La dilución de las muestras obtenidas por arrastre de vapor se realizó al 8% con acetona. A continuación se presentan las condiciones operativas del proceso.

Equipo Utilizado:
GCD System
Hewlett Packard
Modelo G1800A

Condiciones cromatográficas:

Columna: Capilar 30 Mts. 0.25 mm, Inowax (Cw20 m).
Gas acarreador: Helio Ultra Alta Pureza.
Flujo: 1.0 ml/min
Inyector: (modo automático) 250 °C Split 1:150.
Programa: 70-225 °C
Rango: 5 °C/min
Tiempo final: 20 min

Detector: Electro-ionización (Espectrometría de masa).

Rango de masas: 30-425 m/z
Solvent Delay: 2.50 min.
Temp. Det.: 180 °C
Vacio: 33m Torr

Parámetros de Integración.

M.N.P.: 250
P.L.: Local
Threshold: 0.200
Linea base: 5
Area M.P.: 0.1

Con estas condiciones, se obtuvieron cromatogramas con un nivel de integración de .1% del aceite esencial de los romeros "M" y "H", se compararon las diferencias de concentraciones de cada compuesto identificado de las 24 muestras y se obtuvieron los espectros de masa de los componentes del aceite esencial.

En las muestras de aceites extraídas de la primera colecta de ambos cultivares, fue necesario modificar la temperatura inicial a 90 °C y con un incremento de 3.5 °C por minuto para separar los compuestos 1,8 cineole y β -phellandrene.

II.6 . Constituyentes químicos. Análisis estadístico de los componentes del aceite esencial de los cultivares de romero "M" y romero "H".

Se construyó una matriz básica de datos con los resultados obtenidos de los porcentajes de concentración de los compuestos identificados con las muestras obtenidas de la 2ª y 3ª colectas (ver anexo "Componentes identificados y su abundancia (% del total) en los aceites esenciales de los romeros "M" y "H", 2ª y 3ª colectas"). Tomando como base la apreciación de la gente que dice que el romero "M" tiene "olor más fuerte" que el romero "H", se aplicó un análisis de varianza para probar si hay diferencias significativas entre el aroma de los dos romeros, el cual está relacionado con los constituyentes químicos de sus aceites esenciales, principalmente el 1,8 cineole y camphor, y la concentración de cada uno de estos compuestos [1]. También se aplicó una prueba de Tukey para determinar los compuestos con diferencias significativas entre el aceite esencial del romero "M" y el romero "H", su variación con los diferentes métodos: arrastre de vapor (laboratorio) y *headspace* (3ª colecta), fenológicamente y con material fresco y seco. Todas las pruebas fueron efectuadas al 95% de confianza.

II.7 . Descripción de las propiedades organolépticas de los aceites esenciales.

Los parámetros evaluados fueron el color y el olor (la primera impresión percibida). La descripción del color fue efectuada por la que escribe este trabajo. El olor fue caracterizado por perfumistas, biólogos, trabajadores de diversos ramos, agricultores y comerciantes.

II.8 . Análisis fisicoquímicos de los aceites esenciales.

Determinación de la densidad específica.

Para determinar la densidad de los aceites esenciales de los romeros "M" y "H", de la 1ª y 2ª colectas se utilizó el método descrito por Shriner, Fuson y Curtin (1982), el cual permite medir la densidad con pequeñas cantidades de aceite [29].

Determinación del índice de refracción.

El índice de refracción se determinó en las 18 muestras extraídas por el método de arrastre de vapor, a 20 °C con un refractómetro marca ATAGO CO., LTD.

Determinación de la rotación óptica.

La determinación de la rotación óptica se llevo a cabo sólo en los aceites extraídos de la primera colecta, debido a que en las colectas 2 y 3 se obtuvo entre .9 y 1 ml de aceite esencial y mínimamente se necesitan 5 ml para realizar esta prueba, con un polarímetro Jasco DIP-360. Línea D sodio (589), sin disolvente, con una longitud de celda de 1 dm, un tiempo de integración de 30 s y una abertura de 3. Dicha prueba fue repetida dos veces.

II. 9 . Actividad antibacteriana.

Se compararon los halos de inhibición de los aceites esenciales de los cultivares de romero "M" y "H". Se utilizó el método de disco Bauer *et al.* (1966) *cit. in.* [49], para probar la actividad antibiótica de los aceites esenciales. Los organismos utilizados en estas pruebas fueron *Escherichia coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 y *Mycobacterium smegmatis* ATCC. Se preparó un medio para antibióticos num. 1 de Grove y Randall de Bioxon, para las pruebas con bacterias gram⁺ y gram⁻. Se mezcló 30.5 g de polvo deshidratado por litro de agua destilada. Se calentó a ebullición agitando frecuentemente y se esterilizó en autoclave a 120 °C y 15 lb de presión durante 15 min. Para las pruebas con *M. smegmatis* se usó el medio Bacto Mycobacteria 7H11 Agar deshidratado Difco. Se agregó 30.5 g de agar en 1 litro de agua destilada durante 10 min. Se calentó en ebullición y se esterilizó en la mismas condiciones del medio anterior. Las cajas de petri se llenaron con 7 ml de medio; una vez que este solidificó, las bacterias fueron sembradas. Pannizi *et al.* (1993) determinaron que el MIC (Mínima concentración inhibitoria) del aceite esencial del romero para *Staphylococcus aureus* era de 20 µg/ml y para *Escherichia coli* era de 40 µg/ml [88]. Estas concentraciones se tomaron en cuenta para aplicar la cantidad de aceite en los discos de papel absorbente Whatman del num. 2 de 5 mm de diámetro; para el caso de *M. smegmatis* se probó una concentración de 20 µg/ml. Se colocó un solo disco en el centro de cada caja de petri y se hicieron 5 repeticiones por cepa. Las caja petri con microorganismos y discos fueron incubados por 24 hrs, 48 hrs y 72 hrs a 27 °C. El diámetro del halo de inhibición -zona libre de microorganismos- fue medido con un vernier. Las pruebas se realizaron con los aceites esenciales extraídos por arrastre de vapor en los años de 1997 (1ª colecta) y 1998 (2ª colecta).

Análisis estadístico de los halos de inhibición de las pruebas antibacterianas con aceites esenciales de los romeros "M" y "H".

Se aplicó un análisis de varianza para determinar si hay diferencias significativas de los halos de inhibición de las pruebas antibacterianas realizadas con los aceites esenciales de los romeros "M" y "H". Se aplicó la prueba de Tukey para determinar diferencias entre las medias de los tratamientos. Todas las pruebas fueron efectuadas al 95% de confianza.

11.10 . Rendimiento, color y descripción organoléptica

El aceite esencial de los romeros "M" y "H" de la primera colecta se obtuvo en dos partes; en el romero "M" se extrajo a los 30 minutos de destilación 1 ml del aceite esencial de color amarillo pálido y de los 36 minutos hasta completar 155 minutos de tiempo de destilación, 7 ml de aceite esencial incoloro. En el romero "H", a los 33 minutos se obtuvieron 2.3 ml de aceite esencial incoloro y de los 37 minutos hasta completar los 155' de tiempo de destilación, 10.2 ml de aceite esencial de color amarillo pálido. La cantidad total del aceite esencial obtenido de la primera colecta fue de 12.5 ml de romero "H" y 8 ml de romero "M", lo que representa el 1% de rendimiento.

De la segunda y tercera colecta, se extrajo entre .9 ml y 1 ml de aceite esencial por muestra lo que representa el 1.5 % de rendimiento. El aceite esencial de ambos romeros fue incoloro.

El aceite esencial de los romeros "M" y "H" fueron evaluados por 20 personas en total. Cabe mencionar que 2 de los participantes tenían catarro. Resumo en la tabla 14 la percepción de los participantes, quienes en algunos casos coincidieron en su apreciación.

Tabla 14. Percepción olfativa del aceite esencial de los romeros "M" y "H" de una muestra de 20 personas

ROMERO "M"	ROMERO "H"
Olor más fresco, más impactante, más directo, llega de primera entrada.	Olor más rebuscado, se necesita olerlo para obtener su aroma.
Olor más fuerte más a madera	Olor más débil
Olor más definido, más alcanforado-eucaliptado, tiene menos mezcla.	Olor menos definido, más mezclado, varios componentes, α y β pineno, verde, alcanfor y con una amplia gama de tonos.
Olor más fuerte, más concentrado, asociado con el pescado	Olor más suave, más diluido
Olor picante, más penetrante	Olor a iglesia, a bosque de pino, más sostenido
Olor más penetrante	Olor menos penetrante
Olor amargo	Olor dulce
Olor a romero	Olor a miel
Olor a romero	Olor a perfume
Olor a romero	Olor a romero
Olor a eucalipto	Olor a romero
Olor más fuerte, más concentrado	Olor más débil, menos concentrado
Olor a eucalipto	Olor a incienso
Olor a pirul, más determinante.	Olor a perfume, tiene un olor que se disipa como agua

II.11. Propiedades Físicoquímicas.

La densidad de los aceites esenciales de los romeros "M" y "H" es baja y varió igual en ambas muestras de 0.8900 a 0.9000, este último dato se registró para las muestras de la 1ª colecta. La rotación óptica de los aceites obtenidos de la 1ª colecta fue diferente: el aceite del romero "H" tiene una rotación óptica baja y el del romero "M" una rotación óptica alta y variable, comenzó en 14.999 y siguió aumentando con el tiempo hasta retirar la muestra del aparato. El índice de refracción de los aceites también presentó variación, en el romero "M" en la primera colecta fue de 1.4719 y en romero "H" fue de 1.4761; en la segunda y tercera colectas en el romero "M" varió de 1.4719 a 1.4741 y en el romero "H" de 1.4736 a 1.4762 (tabla 15).

Tabla 15. Propiedades Físicoquímicas del aceite esencial de los romeros "M" y "H".

Cultivar	Índice de refracción (n_D)	Densidad (d_{20})	Rotación óptica (α_D)
Romero "M"	1.4719-1.4741	0.8900-0.9000	14.999-15
Romero "H"	1.4736-1.4762	0.8900-0.9000	-3.155

II.12. Composición química y concentración de los aceites esenciales de los romeros "M" y "H". Análisis por (CG/MS).

En las tablas 16, 17 y 18 se muestran los veinticuatro compuestos que fueron identificados en los aceites esenciales de los cultivares de romero "M" y "H" en la 1ª, 2ª y 3ª colectas por medio de cromatografía de gases/espectrometría de masas y su respectiva concentración expresada como porcentaje. En el anexo se muestran los cromatogramas del aceite esencial de los romeros "M" y "H" con la técnica de *headspace* y arrastre de vapor (Laboratorio y Planta piloto); los espectros de masas de los compuestos de los aceites esenciales identificados y no identificados, el tiempo de retención, la estructura de los compuestos identificados y la curva de separación de los componentes 1,8-cineole y β -phellandreno de las muestras de aceites extraídas de la primera colecta de ambos cultivares modificando la temperatura inicial a 90 °C y con un incremento de 3.5 °C por minuto.

Tabla 16. Componentes identificados y su abundancia (% del total) en los aceites esenciales de los romeros "M" y "H" durante la floración.

Compuesto	R. "M"		R. "H"		R. "M"	R. "H"
	1ª colecta		1ª colecta		2ª colecta	2ª colecta
Color	Amarillo	Incoloro	Incoloro	Amarillo	Incoloro	Incoloro
tricyclene	0.11	0.19	0.26	0.23	0.12 - 0.19	0.19 - 0.28
α -pinene	7.28	10.50	10.29	9.58	7.52 - 11.08	10.32 - 11.70
camphene	4.47	5.69	6.68	6.54	4.65 - 5.82	6.29 - 7.41
β -pinene	6.35	6.66	6.14	6.54	4.77 - 5.83	3.78 - 5.41
sabinene	1.17	0.15	0.19	0.19	0.09-0.13	0.08-0.13
Δ^3 carene	0.09	0.09	0.03	0.04	0.08 - 0.11	0.04 - 0.05
myrcene	3.79	3.44	11.49	11.79	2.43 - 3.08	11.71 - 12.99
α -phellandrene	3.88	7.06	3.41	3.56	5.64 - 6.19	3.01 - 3.33
α -terpinene	0.59	1.04	0.62	0.73	1.18 - 1.36	0.90 - 1.01
limonene	5.14	6.11	4.14	4.34	5.46 - 6.14	4.23 - 4.97
1,8-cineole	11.44*	23.3*	10.6*	8.84*	19.86 - 20.30	15.20 - 17.63
cis-b-ocimene	1.09	1.04	3.46	3.39	0.69 - 0.88	1.25 - 2.09
γ -terpinene	1.94	2.19	1.63	1.35	1.86 - 2.35	1.19 - 1.31
p-cymene	3.41	1.97	0.55	0.70	2.89 - 3.65	1.79 - 2.41
terpinolene	0.63	0.61	0.66	0.79	0.52 - 0.64	0.51 - 0.59
camphor	9.01	21.29	11.17	6.92	21.81 - 26.39	17.46 - 21.2
bornyl acetate	10.89	1.58	6.64	7.94	1.46 - 2.93	2.19 - 3.72
β -cariophyllene	17.46	1.92	13.96	16.91	1.46 - 3.20	3.28 - 4.93
terpinen-4-ol	-	0.40			0.62 - 0.91	0.04 - 0.68
α -humulene	-	0.06	2.95	3.65	0.10 - 0.24	0.67 - 0.94
α -terpineol	0.16	0.41	0.34	0.19	0.67 - 0.84	0.85 - 1.28
borneol	0.57	1.04	0.33	0.17	2.08 - 3.02	1.66 - 2.08
verbenone	0.04	0.26		-	0.20 - 0.32	0.05 - 0.17
caryophyllene oxide	7.76	-	3.04	4.31	0.49 - 0.57	0.43 - 0.97
NI	1.21	1.45	1	0.89	1.63	1.37

NI. % de compuestos no identificados

*1,8-cineole+ β -phellandrene

Tabla 17. Componentes identificados y su abundancia (% del total) en los aceites esenciales de los romeros "M" y "H" al final de la floración (3ª colecta) y con material seco de la 2ª colecta.

Compuesto	R."M" 3ª colecta	R."H" 3ª colecta	R."M" Seco 2ª colecta	R."H" Seco 2ª colecta
Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
tricyclene	0.03 - 0.19	0.28 - 0.32	0.20	0.34
α -pinene	9.19 - 10.7	11.22 - 12.97	11.66	14.41
camphene	5.44 - 5.94	7.38 - 7.86	6.00	8.35
β -pinene	6.00 - 7.36	4.47 - 7.66	4.76	3.53
sabinene	0.12-0.19	0.08-0.26	0.08	0.05
D ³ carene	0.08 - 0.09	0.04	0.11	0.04
myrcene	2.73 - 3.03	10.14 - 11.91	3.00	12.53
α -phellandrene	5.54 - 7.51	3.00 - 3.77	6.72	3.59
α -terpinene	0.91 - 1.40	0.57 - 1.03	1.78	1.27
limonene	5.44 - 6.22	3.79 - 5.18	6.53	5.17
1,8-cineole	19.25 - 20.3	11.3 - 16.57	19.97	16.12
cis-b-ocimene	0.93 - 1.6	2.20 - 3.35	0.71	2.26
γ -terpinene	2.16 - 2.89	1.13 - 1.75	2.02	1.26
p-cymene	1.6 - 4.18	0.21 - 2.59	3.75	2.14
terpinolene	0.56 - 0.74	0.50 - 0.66	0.62	0.54
camphor	16.9 - 21.02	8.72 - 14.56	20.04	14.36
bornyl acetate	2.59 - 5.05	2.71 - 7.98	1.77	2.41
β -caryophyllene	3.12 - 4.49	6.38 - 13.6	3.59	6.22
terpinen-4-ol	0.37 - 0.67	0.36	0.58	0.32
α -humulene	0.20 - 0.35	1.35 - 2.48	0.24	1.39
α -terpineol	0.43 - 0.51	0.53 - 0.63	0.46	0.49
borneol	0.88 - 2.24	0.18 - 1.27	1.77	1.06
verbenone	0.15 - 0.17	-	0.19	-
caryophyllene oxide	0.88 - 1.42	1.06 - 2.94	0.40	
NI	1.66	1.19	1.96	.84

NI. % de compuestos no identificados

Tabla 18. Componentes identificados y su abundancia (% del total) en los aceites esenciales de los romeros "M" y "H" obtenidos con el método *headspace*.

Compuesto	R. "M" <i>headspace</i> seco	R. "H" <i>headspace</i> seco	R. "M" <i>headspace</i> fresco	R. "H" <i>headspace</i> fresco
tryciclene	0.58	0.83	0.61 - 0.64	0.93 - 1
α -pinene	21.47	23.4	15.49 - 16.88	16.56 - 18.85
camphene	11.27	14.4	10.74 - 11.33	13.34 - 13.69
β -pinene	7.06	5.04	9.52 - 13.28	11.77 - 11.84
sabinene	-	-	0.19-0.41	0.21-0.36
Δ^3 carene	0.16	0.08	0.15 - 0.17	0.04 - 0.08
myrcene	4.26	16.1	4.48 - 4.88	14.95 - 17.6
α -phellandrene	8.48	3.74	8.05 - 8.97	5.17 - 5.41
α -terpinene	2.23	1.42	1.31 - 1.9	0.06 - 0.87
limonene	6.12	5.18	6.06 - 6.82	4.44
1,8-cineole	18.32	13.8	18.15 - 18.64	13.15 - 14.29
cis-b-ocimene	0.82	2.56	0.5 - 1.81	2.37 - 3.3
γ -terpinene	1.74	1.17	1.87 - 3.01	1.37 - 1.7
p-cymene	3.69	1.82	1.61 - 3.44	0.25 - 0.34
terpinolene	0.42	0.38	0.47 - 0.61	0.5 - 0.55
camphor	8.40	6.32	7.96 - 7.99	5.06 - 5.56
bornyl acetate	0.27	0.44	0.18 - 0.69	0.86 - 1.12
β -cariophyllene	0.38	0.61	0.59 - 0.63	1.3 - 1.41
terpinen-4-ol	0.11	0.07	0.13 - 0.14	0.08 - 0.1
α terpineol	-	0.09	0.08	0.12
borneol	0.35	0.2	0.22 - 0.28	0.1
verbenone	0.07	-	0.09 - 0.1	0.09
NI	1.64	1.24	2.51	2.23

NI. % de compuestos no identificados

II. 13 Análisis, extracción por arrastre de vapor.

Los aceites esenciales de los cultivares "M" y "H" presentaron diferencias cuantitativas pero no cualitativas en su composición (Tablas 16 y 17). De acuerdo con el análisis de varianza realizado con los datos presentados en el anexo (Componentes identificados y su abundancia (% del total) en los aceites esenciales de los romeros "M" y "H", 2ª y 3ª colectas) mostró diferencias significativas en el aceite esencial de los romeros "H" y "M" ($p < 0.05$). La aplicación de las pruebas de Tukey permitieron reconocer estas diferencias que a continuación se presentan. También los resultados de la primera colecta serán comentados.

Compuestos mayoritarios.

Los compuestos mayoritarios obtenidos de la primera colecta procesada en la planta piloto para los aceites de ambos cultivares fueron.

1,8-cineole/camphor/ β -cariofillene/ α -pinene

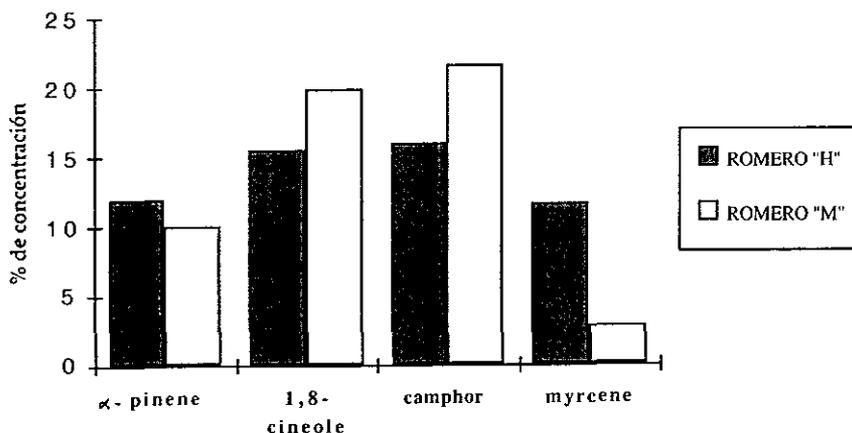
El cultivar "H" además de éstos presentó una alta concentración de myrcene.

Los principales constituyentes del aceite esencial de las muestras de la 2ª y 3ª colectas de ambos cultivares fueron:

1,8-cineole/camphor/ α -pinene.

El cultivar "H" además de estos presentó una alta concentración de myrcene (Gráfica 3).

Gráfica 3 Constituyentes mayoritarios del aceite esencial de los cultivares romeros "M" y "H". Método Arrastre de Vapor *.



* Valores promediados de todas las muestras analizadas (2ª y 3ª colectas, tablas 10 y 11).

El α -pinene no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) en su concentración entre los aceites esenciales de ambos cultivares, ni varió significativamente en las muestras extraídas en plena floración y al final de la floración, ni con muestras de material seco y fresco (colectas 1,2 y 3) (romero "M": 7.28 a 11.08 % y romero "H" de 9.58 a 12.97 %). En la primera colecta la concentración de este compuesto entra dentro del rango de variación mencionado.

El 1,8-cineole en todas las muestras (floración, final de la floración, con material seco y fresco), presentó una mayor concentración en el aceite del romero "M" (19.25 a 20.3 %) y fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que el porcentaje presente en el aceite del romero "H" (11.3 a 17.63 %). El aceite esencial de ambos cultivares entran en la categoría de aceites con bajo contenido de 1,8-cineole ($< 40\%$). En la 1ª colecta la concentración de este compuesto obtenido del romero "M", presentó una amplia variación en el aceite amarillo (11.44%) con respecto al aceite incoloro (23.3 %) . Mientras que en los dos aceites (amarillo e incoloro) del Romero "H" fue baja la variación (8.84 a 10.6%)

El camphor también presentó en todas las muestras (floración, final de la floración, con material seco y fresco), una mayor concentración ($p < 0.05$) en el aceite esencial del romero "M" con respecto al del romero "H". Sin embargo presentó una amplia variación entre muestras en ambos romeros. El aceite extraído de la 2ª colecta (plena floración, fresca o seca) tuvo mayor concentración ("M": 21.29 a 26.39 %; H: 17.46 a 21.2 %) que al final de la floración, 3ª colecta ("M": 16.9 a 21.02 %; "H" 8.72 a 14.56 %). La amplia variación también se da en las muestras de la 1ª colecta (M: aceite amarillo (9.01%), aceite incoloro (21.29); "H" aceites amarillo 6.92%, aceite incoloro 11.17%).

El compuesto distintivo del aceite esencial del romero "H" es el myrcene. Este componente tiene alta diferencia significativa ($p < 0.05$). En todas las muestras su porcentaje fue significativamente mayor que el presente en el romero "M". Esta tendencia también se observa en las muestras de la 1ª colecta. Además se mantuvo con baja variación entre muestras (floración, final de la floración, con material seco y fresco) ("H": 10.14%-12.99%). En el romero "M" este compuesto está por debajo de 4%.

Compuestos con poca variación entre muestras de arrastre de vapor.

Los compuestos, α -pinene, camphene ("M": 4.65 a 6; "H": 6.54 a 8.35), β -pinene ("M": 4.76 a 7.36%; "H": 3.78 a 7.66%), myrcene, α -phellandrene ("M": 5.54 a 7.75%; "H": 3.01 a 3.77%), α -terpinene ("M": 0.59 a 1.78%; "H": 0.57 a 1.27 %), limonene ("M": 5.45 a 6.82 %; "H": 3.79 a 5.18 %), 1,8 cineole, cis β - ocimene ("M": 0.71 a 1.6 %; "H" 1.25 a 3.35 %), , γ -terpinene ("M": 1.86 a 2.89%; "H": 1.13 a 1.75 %), p-cymene ("M": 1.6 a 4.18%; "H": 0.21 a 2.59%), no presentaron

diferencias significativas ($p > 0.05$) entre muestras extraídas en plena floración, al final de la floración y con material seco y fresco en los aceites de ambos romeros.

Esta tendencia se observa en las muestras de la 1ª colecta para los mismos compuestos.

El caryophyllene oxide no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre la 2ª y 3ª colectas ("M": 0.49 a 1.42%; "H": 0.43 a 0.97%), sin embargo, en la 1ª colecta el porcentaje de concentración es mayor al 3% ("M": 7.06; "H": 3.04 a 4.31).

Los compuestos tricyclene, Δ -3-carene, sabinene, terpinolene, α -humulene, terpinen-4-ol, α -terpineol y verbenone, se obtuvieron por debajo del 1% en los aceites de ambos romeros y también presentaron una baja variabilidad entre muestras. Esta tendencia se observa en las muestras de la 1ª colecta para los mismos compuestos a excepción de sabinene y α -humulene que rebasaron el 1% en el aceite del romero "M" y en el romero "H" respectivamente.

Compuestos con amplia variación entre muestras de arrastre de vapor.

Los compuestos, bornyl acetate, camphor β -caryophyllene, borneol presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre muestras extraídas por arrastre de vapor.

La variación del compuesto β -caryophyllene presenta diferencias significativas ($p < 0.05$) entre muestras extraídas en plena floración y al final de la floración solo en el romero "H" (3.28 a 13.6%), incrementa su concentración al final de la floración. En el romero "M" es menos variable (1.46 a 4.49%). No hay diferencia significativa ($p > 0.05$) entre una muestra extraída con materiales fresco y seco. Con la extracción realizada en la 1ª colecta, este compuesto es uno de los mayoritarios en la composición del aceite esencial de los dos romeros.

Respecto al bornyl acetate, en la primera colecta presentó una mayor variabilidad en el romero "M" (1.58, 10.59) que en el romero "H" (6.64, 7.94). Durante la floración y con material seco, la variabilidad en el romero "M" (1.46 a 2.93) y en el romero "H" (2.19 a 3.72) se mantiene. Al final de la floración la variabilidad se incrementa en el porcentaje de ambos romeros: "M" (2.59 a 5.05) "H" (2.71 a 7.98).

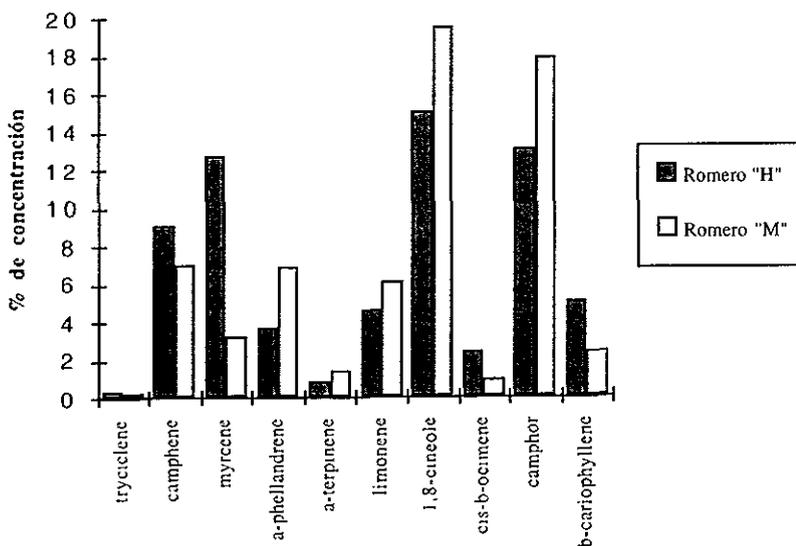
Finalmente, el borneol presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) entre muestras extraídas en plena floración y al final de la floración ("M" 0.88 a 3.02%; "H" 0.28 a 2.08 %), pero no entre muestras de materiales fresco y seco ($p > 0.05$).

.. ! Compuestos con alta diferencia significativa en el porcentaje de concentración entre romero "M" y romero "H" en todas las muestras de arrastre de vapor y *headspace*.

Los compuestos que presentaron alta diferencia significativa ($p < 0.05$) en el porcentaje de concentración y mayor abundancia entre los romeros "M" y "H" fueron:

Romero "H": tricyclene, camphene, myrcene, cis β -ocimene, β -caryophyllene,
 Romero "M": α -phellandrene, α -terpinene, 1,8 cineole, camphor, limonene (Gráfica 4).

Gráfica 4. Constituyentes químicos del aceite esencial de los romeros "M" y "H" con alta diferencia significativa



* Valores promediados de todas las muestras analizadas de Arrastre de Vapor y *headspace* (2ª y 3ª colectas, tablas 10 y 11).

II.14. Análisis *headspace*.

Compuestos mayoritarios.

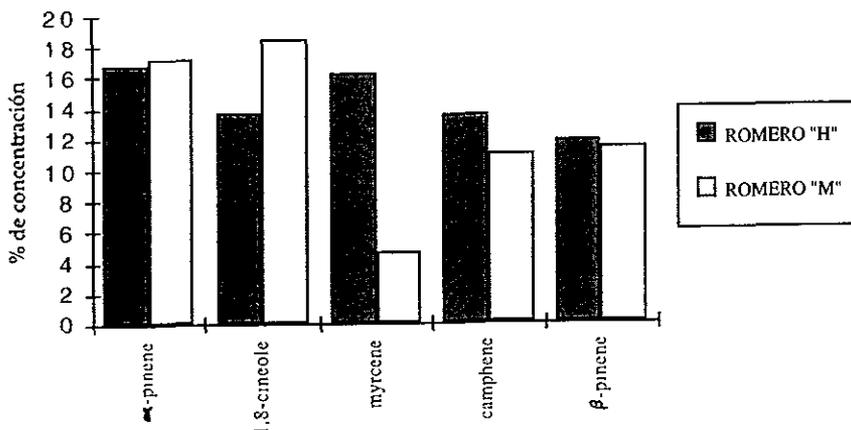
Con el método *headspace* los constituyentes principales de ambos romeros fueron:

α -pinene/camphene/ β -pinene/1,8-cineole (Gráfica 5).

Los compuestos α -pinene y 1,8-cineole también resultaron los constituyentes mayoritarios al analizar el aceite obtenido por arrastre de vapor (*supra* Gráficas 3 y 4). Sin embargo, el camphene y β -pinene no fueron constituyentes mayoritarios en el aceite obtenido por el método anterior.

El myrcene al igual que en el método de arrastre de vapor es el elemento distintivo del romero "H", en el aceite esencial del romero "M" este compuesto está por debajo de 5%.

Gráfica 5 Constituyentes mayoritarios del aceite esencial de los cultivares romero "M" y romero "H". Método "headspace".*



* Valores promediados de todas las muestras analizadas *headspace* (2ª y 3ª colectas, tabla 12).

Compuestos que aumentaron su porcentaje de concentración con respecto al método de arrastre de vapor.

Con el método *headspace* el porcentaje de concentración de los compuestos tricyclene, α -pinene, camphene, β -pinene, γ -terpinene aumentó

significativamente ($p < 0.05$) con respecto a los porcentajes obtenidos con el método de arrastre de vapor para estos mismos compuestos.

Compuestos que disminuyeron su porcentaje de concentración con respecto al método de arrastre de vapor.

Con el método *headspace* el porcentaje de concentración de los compuestos camphor "M" (5.06 a 7.96) "H" (7.96 a 8.40), bornyl acetate "M" (.18 a .69) "H" (.86 a 1.12), α - humulene, disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) con respecto a los porcentajes obtenidos con el método de arrastre de vapor para estos mismos compuestos.

Con el método *headspace* el caryophyllene oxide no fue registrado en ninguno de los aceites esenciales de los romeros "M" y "H".

II.15 Descripción cuantitativa por clases químicas de compuestos.

Dividiendo por clases químicas los compuestos identificados tenemos:

Monoterpenos:

myrcene, limonene, α y γ terpinene, p-cymene, α y β pinene, Δ -3-carene, camphene, tricyclene, sabinene, α phellandrene, cis b ocimene, terpinolene

Alcoholes:

α -terpineol, terpinen 4 ol, borneol

Cetonas:

camphor, verbenone

Eteres:

1,8 cineole

Esteres:

bornyl acetate

Sesquiterpenos:

caryophyllene, α -humulene, caryophyllene oxide.

Haciendo una comparación por clases de compuestos en cada tipo de romero, podemos describir las tendencias de cada clase en ambos romeros y corroborar globalmente las variaciones encontradas para cada compuesto, sin afirmar si son iguales o diferentes, hipótesis que fue probada con el análisis de varianza. En la tabla 19 se presenta un resumen por tipo de compuestos para cada uno de los métodos aplicados: arrastre de vapor en laboratorio (AVL), arrastre de vapor en planta piloto (AVPP), técnica *headspace* (HSP).

Tabla 19. Análisis cuantitativo de los aceites esenciales por clases químicas de compuestos*

	AVL		AVP		HSP	
	"H"	"M"	"H"	M	"H"	M
monoterpenos	50.1	44.8	49	41.34	75.5	68.6
alcoholes	2.6	3.8	3.13	4.77	0.55	2
cetonas	16.2	22	19.63	26.71	5.4	8.07
éteres	15	20	15.2	20.30	14	18
ésteres	4	3	2.41	1.49	1	0.4
Sesquiterpenos	9.3	4.1	6.11	2.16	1.4	0.61
Total	97.3	97.7	95.5	96.77	97.8	97.7
NI	1.7	2.3	4.5	3.23	2.2	2.3

*Promedio del total de muestras para cada método.

Arrastre de vapor en laboratorio (AVL), arrastre de vapor en planta piloto (AVPP), técnica *headspace* (HSP).

NI. no identificado

Como podemos observar, los monoterpenos se incrementaron en los dos tipos de romeros en más de un 15% con el método de *headspace* a diferencia de alcoholes, cetonas, ésteres y sesquiterpenos los cuales disminuyeron en más del 2%, mientras que los éteres se mantienen sin mucha variación. Los monoterpenos, ésteres y sesquiterpenos son más abundantes en el aceite del romero "H", por su parte los alcoholes, cetonas y éteres son más abundantes en el aceite del romero "M".

Comparando las muestras extraídas durante y al final de la floración y con materiales seco y fresco, usando las clases químicas de los compuestos, encontramos que los monoterpenos, ésteres y sesquiterpenos se incrementaron en más del 2% al final de la floración. Los alcoholes y cetonas disminuyeron en más de 1%. Los éteres no variaron en más de 0.9% (tabla 20).

Tabla 20. Análisis cuantitativo de los aceites esenciales por clases químicas de compuestos, durante y al final de la floración*

	AVPF	AVPF	AVFF	AVFF
	"H"	"M"	"H"	"M"
monoterpenos	49.3	42.8	51.3	47.4
alcoholes	3.41	3.99	1.49	2.29
cetonas	19.2	24.1	12.2	19.1
éteres	16.2	20.1	15.4	19.6
ésteres	2.82	2.06	5.57	4.17
Sesquiterpenos	5.97	3.25	13.7	5.37
Total	96.9	96.3	98.6	98
NI	3.05	3.73	1.45	2

Promedio del total de muestras de Arrastre de vapor laboratorio. (% del total).

Arrastre de vapor laboratorio durante la floración (AVPF), Arrastre de vapor laboratorio final de floración (AVFF),

NI. no identificado

Para muestras extraídas con arrastre de vapor, los monoterpenos aumentaron con muestras secas en más de un 5%; los alcoholes disminuyeron con muestras secas en más de 1 %; las cetonas disminuyeron en más de un 4%, los éteres y ésteres variaron menos del 0.4% con material fresco y seco, los sesquiterpenos aumentaron en más de 1% con material seco(Tabla 21).

Tabla 21. Análisis cuantitativo de los aceites esenciales por clases químicas de compuestos, con materiales fresco y seco*

	AVPF	AVPF	AVS	AVS
	"H"	"M"	"H"	M
monoterpenos	49.3	42.8	55.48	47.90
alcoholes	3.41	3.99	1.87	2.81
cetonas	19.2	24.1	14.41	20.23
éteres	16.2	20.1	16.12	19.97
ésteres	2.82	2.06	2.41	1.8
Sesquiterpenos	5.97	3.25	8.34	4.23
Total	96.9	96.3	98.63	96.91
NI	3.05	3.73	1.37	3.09

Promedio del total de muestras extraídas con material fresco por arrastre de vapor laboratorio Arrastre de vapor laboratorio material fresco (AVPF); Arrastre de vapor laboratorio con material seco (AVS).

NI. no identificado

II.16. Pruebas Antibacterianas

Los resultados de las pruebas antibacterianas están resumidos en la tabla 22. Los organismos empleados en este ensayo fueron seleccionados como representantes de las bacterias gram⁺, gram⁻ y ácido resistentes. Los resultados indican que los aceites esenciales de los dos cultivares tienen actividad antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium smegmatis*. Los aceites esenciales de los romeros "M" y "H" presentaron un halo de inhibición bien definido alrededor del papel filtro y fueron activos principalmente contra *M. smegmatis*.

c

De acuerdo con el análisis de varianza los halos de inhibición mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en ambos cultivares. El aceite esencial del romero "M" presentó un halo de inhibición significativamente mayor ($p < 0.05$) contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Por su parte, el aceite esencial del romero "H" presentó significativamente mayor efectividad contra *M. smegmatis*, pues su halo de inhibición fue mayor que el producido por el aceite del romero "M".

Tabla 22. Inhibición (mm) del crecimiento bacteriano por los aceites esenciales de los romeros "M" y "H".

Aceite esencial	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>M. smegmatis</i>
1ª Colecta 1997			
"M" amarillo	9.7 ± 0.4*	13.07 ± 0.55*	21.2 ± .9*
"H" incoloro	se	10.2 ± 0.5*	27.8 ± 0.7*
2ª Colecta 1998			
"M" incoloro	12.6 ± 0.3*	9.9 ± 0.3*	19.9 ± .7*
"H" incoloro	8.18 ± 0.5*	8.3 ± 0.2*	25.06 ± 1.2*

*Diferencia significativa $p < 0.05$.

se=sin efecto.

DISCUSION

Según Berlin *et al.* (1966), en las taxonomías folk no se suele clasificar extensivamente a menos que los organismos resulten importantes y son precisamente los organismos cultivados los que llegan a tener 2 o más nombres para una sola especie lineana ("sobrediferenciación") [32]. En el caso del romero, siendo una planta silvestre en su lugar de origen, cultivada en diversos países y con importancia medicinal y culinaria a nivel mundial, es conocida con diversos nombres populares. En países como España e Italia llega a ser nominado hasta con 9 nombres diferentes (*supra* I.4); además, la recopilación de 49 cultivares conocidos de *Rosmarinus officinalis* L. (cuadro 2), refleja su plasticidad adaptativa que tiene que ver con su sistema reproductivo (*supra* I.11), su material genético, su variabilidad química y morfológica.

El romero como otras lamiaceas que proceden del viejo mundo, han sido y siguen siendo objeto de procesos directos e indirectos de domesticación [70]. En México, según Estrada (1986) "es en los huertos familiares, principalmente, los lugares donde se propagan, domestican y se conservan las plantas medicinales que en un alto porcentaje son plantas introducidas como el romero, la albahaca, la ruda, el ajeno" [64].

Los productores de plantas medicinales al dar cuenta sobre los cultivares "M" y "H", y al diferenciarlos por el tamaño de la hoja ("más delgadita", "más gruesa"), el olor ("más fuerte", "menos fuerte"), el color ("verde más oscuro", "verde claro") y sus propiedades (una es más "fuerte" más "efectiva", "menos fuerte" "menos efectiva") (*supra* I.5), están comunicando algunas de las características seleccionadas.

Por otro lado, en la nomenclatura popular existen plantas que son nominadas como "macho" y "hembra", y pueden pertenecer a diferentes especies, como es el caso de las sábilas y los mirtos [48], o a la misma especie como en el romero. Este apelativo no refleja necesariamente una distinción del sexo, sino más bien una forma de nombrar atributos y propiedades reconocidas de las plantas que tienen una apariencia similar*.

En cuanto a los usos del romero, el mayor número de registros de los tres herbarios revisados, se obtuvo para las dolencias relacionadas con enfermedades de la mujer (25 localidades, 12 tratamientos), con el aparato digestivo (11 localidades, 8 tratamientos), respiratorio (9 localidades, 8 tratamientos) y síndromes de filiación cultural (12 localidades, 10 tratamientos).

*Según menciona Pelt (1994), a las plantas, desde tiempos antiguos, se les adjudicó un sexo en el lenguaje simbólico, pero era en función del razonamiento analógico, así diversos pueblos clasifican a las plantas vecinas por parejas: una gramínea de hojas cortantes será denominada "macho" en relación con otra especie próxima de hojas más suaves que a su vez se convertirá en "hembra". En la tradición popular se adjudica un sexo "macho" y "hembra" a las plantas, sólo en función de su morfología [144].

Ahora bien, ¿estamos hablando de una misma entidad morfológica y química cuando señalamos los romeros "M" y "H"? (fig.8).



Fig. 8 Cultivares de romero "H" y "M".

El análisis estadístico de la variación morfológica, química y antibacteriana permitió evaluar en qué grado son diferenciables las poblaciones estudiadas de los cultivares de romero "M" y "H".

En el análisis discriminante de los caracteres morfológicos, se pudo observar que la mayor parte de los individuos se discriminaron y clasificaron de acuerdo con la división *a priori* de las poblaciones "M" y "H", presentando una identidad como grupo que permitió distinguirlas una de otra y se demostró además que son significativamente diferentes.

Existe una similitud morfológica de la hoja, flor y polen de ambos romeros, las diferencias presentadas son cuantitativas. Sexualmente son plantas hermafroditas con ginodioicismo temporal (*supra* I.11) que consiste en cambios graduales de su sistema reproductivo durante el periodo de floración. En las dos poblaciones se pudieron observar estos cambios, cabe destacarlo, por su importancia en el tamaño de las flores, cuyos componentes presentaron una significativa correlación; cuando se da la presencia de estambres estériles, generalmente la flor (labio superior, inferior y estilo) llega a ser de tamaño más pequeño (tabla 6), lo cual podría influir en la predicción de nuevas observaciones, y se reflejó en el porcentaje de predicción de los romeros "H" y "M" (*supra* I.10).

Si las diferencias morfológicas entre las dos poblaciones fueran muy marcadas, se hubiera esperado un 100 % de predicción en la discriminación de ambas poblaciones sin embargo no sucedió así, algunas observaciones formaron un subconjunto difuso. Se explicaba que este comportamiento podría deberse a una correlación en el tamaño entre los diferentes elementos de la flor, pero también significa que las poblaciones de romero estudiadas no son conjuntos discretos y homogéneos sino, que son heterogéneos, y dentro de las poblaciones se pueden observar individuos que comparten similitudes con individuos del otro grupo. Es factible encontrar hojas en el romero "H" que tengan el grosor determinado para el romero "M", a su vez es factible encontrar en algunas observaciones, la longitud del estilo en un punto crítico donde no se pueda diferenciar entre los dos romeros. No obstante esta heterogeneidad las poblaciones estudiadas poseen una entidad como grupo y pueden ser discriminadas una de otra.

Con respecto al polen, hubo un 100% de discriminación, esto indica que los caracteres vista ecuatorial-eje ecuatorial y colpos opuestos son muy estables, así el radio ecuatorial del polen del romero "H" es de mayor tamaño que el del romero "M".

Los métodos estadísticos permitieron también conocer cuales son los caracteres y atributos más importantes para diferenciar los dos cultivares y en términos generales, de modo relevante, los resultados parecen confirmar que algunos de estos son los mismos que los productores perciben para distinguir los dos cultivares:

El ancho de las hojas, el tamaño del estilo, el tamaño en el polen de la vista ecuatorial-eje ecuatorial y distancia entre colpos adyacentes, la abundancia diferencial de algunos constituyentes químicos que incluso puede apreciarse olfativamente, el tamaño de los halos de inhibición bacteriana. Además se observaron diferencias en las cantidades entre polen normal y polen colapsado en las flores, en la fenología y el número de tricomas en las hojas de cada cultivar (Zlotinic, A. com. pers.) (tabla 23).

Los cultivares estudiados presentaron diferencias cuantitativas pero no cualitativas en la composición de su aceite esencial, siendo los compuestos mayoritarios de ambos aceites de romero, obtenidos por arrastre de vapor en laboratorio:

1,8-cineole > camphor > α -pinene

El myrcene solo fue mayoritario para el aceite esencial del romero "H".

No obstante las diferencias en los métodos de extracción, la colecta realizada en diferentes periodos de floración y con material fresco y seco, los compuestos 1,8-cineole y myrcene presentaron baja variación, es decir una constancia en el porcentaje de concentración en ambos aceites, lo cual sugiere clasificarlos dentro del tipo eucaliptol de acuerdo con la clasificación de Granger, *et al. cit. in. [1] (supra II.2)*. Siendo el porcentaje de myrcene la principal diferencia química del aceite esencial entre los romero "M" y "H". Otros compuestos como tryclicene, camphene, cis β -ocimene, β -caryophyllene, α -phellandrene, α -terpinene, limonene también contribuyen a la diferenciación entre los dos aceites, puesto que sus diferencias son significativas en todas las muestras (*supra* gráfica 4).

El aroma de los romeros "M" y "H"

*"La explicación de un olor no es tan buena, como lo es percibirlo en realidad".
Sylvester 146*

De modo general, los aromas se manifiestan mediante procesos químicos en los cuales las moléculas aromáticas activan nervios específicos que a su vez estimulan ciertas áreas cerebrales, para distinguir un aroma el cerebro debe determinar la combinación exacta de receptores activados por un olor específico [151]. Es fácil distinguir un aroma pero difícilmente puede definirse, estos son organizados e identificados en diversas clasificaciones que tienen una relación cultural [66].

Chamblee y Clark (1993) mencionan los 3 campos necesarios para entender la compleja naturaleza de los aceites esenciales: cualitativa (cuáles compuestos están presentes), cuantitativa (cuánto hay de cada compuesto) y organoléptica (cuáles constituyentes son los más importantes en el aroma), está última es la menos entendida y comprende diversas y complejas variables de difícil control [129].

En el caso del aroma del romero, la prueba organoléptica del olor llevada a cabo con una muestra de 20 personas de diversos ramos, indicó que es posible diferenciar el aroma de los romeros "H" y "M". Se pudo observar que existe una diversidad de opiniones que van desde las más evidentes: "aroma a

romero", hasta los relacionados con algo ya conocido: aroma "a miel", "a perfume", "a incienso".

Otras opiniones destacan que el romero "M" "es más directo", "más concentrado", "más penetrante", mientras que el aroma del romero "H" es "más suave", "menos concentrado", "menos penetrante" y coinciden con lo que popularmente se dice del romero "M" es "más fuerte" que el del romero "H", y a su vez es expresado de otra manera por un perfumista: el romero "M" tiene un aroma "más definido, más alcanforado-eucaliptado, menos mezcla", en cambio el aroma del romero "H" " es un olor menos definido, más mezcla de varios componentes α - β -pineno, verde, alcanfor y con una amplia gama de tonos."

Por otro lado, el aroma del romero está caracterizado principalmente por el (1,8 cineole)/eucalyptol y el camphor, aunque otros componentes también influyen (*supra* II.7). La comparación cuantitativa de estos compuestos en el aceite de ambos romeros, fue útil para explicar las diferencias del aroma. El aceite del romero "M" presentó una mayor abundancia de los compuestos 1, 8 cineole y camphor con respecto al aceite del romero "H". Si bien en ambos romeros predomina el olor a eucalyptol/camphor, el aroma del romero "H" se diluye con otros compuestos que también son abundantes como el myrcene.

Ya se había referido, que el aceite del romero "M" tiene una mayor comercialización, y tiene mayor preferencia debido (entre otros atributos) a su aroma "más fuerte" (*supra* I.5), lo cual se corrobora con los resultados obtenidos de la concentración de los compuestos químicos antes mencionados y con la percepción de los participantes en la prueba organoléptica de los romeros.

Al caracterizar los romeros estudiados por clases de compuestos químicos de sus aceites esenciales, se corrobora la diferencia aromática de estos aceites, experiencias de este tipo han sido reportadas por Chamblee y Clark (1993) para aceites esenciales de cítricos [129]. Así de acuerdo con la tendencia del total de muestras (1^a, 2^a y 3^a colectas), el aceite del romero "H" es más rico en monoterpenos y sesquiterpenos y ligeramente rico en ésteres comparado con el aceite del romero "M" el cual fue más rico en cetonas y ésteres y ligeramente rico en alcoholes (tabla 19).

Estos resultados sugieren, -y en busca de estandarizar la subjetividad aromática del romero, que no es sino otra manera de expresar el aroma-, de acuerdo con la caracterización cualitativa de Boelens (1985) [1] (tabla 11), para el romero "H" un aroma eucaliptado mezclado con frutal, maderoso, balsámico, y para el romero "M" un aroma fresco, menta, eucaliptolado.

Las diferencias morfológicas y químicas encontradas en los romeros "M" y "H" (tabla 23) dan pauta para considerarlos en el registro de los cultivares de la especie *Rosmarinus officinalis* var. *genuina* en México.

Tabla 23. Caracterización cuantitativa y cualitativa de los romeros "H" y "M".

		Romero "H"	Romero "M"
Entidad Taxonómica		<i>Rosmarinus officinalis</i> var. <i>genuina</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i> var. <i>genuina</i>
Rasgos morfológicos distintivos	Estilo	12(17.7)20 cm	9(14.2)15.5 cm
	Ancho de hoja	1.4(2.1)3.2 cm	1,8(2.9)4.3 cm
	Depresiones anatómicas de la hoja	<cantidad	>cantidad
	Tricomas glandulares	<cantidad	>cantidad
	Polen	Esferoidal 40.37X44.6m	Esferoidal 40.17X40.25m
	Polen colapsado	16%	27%
Fenología	Duración del periodo de floración	9 meses	7 meses
Entidad química	Quimiotipo	Eucalyptol (1,8 cineole)	Eucalyptol (1,8 cineole)
Rasgos químicos distintivos	Compuestos mayoritarios	1,8cineole>camphor> α -pinene>myrcene	1,8cineole>camphor> α -pinene
	Clases de compuestos químicos	más rico en monoterpenos y sesquiterpenos, ligeramente rico en ésteres	más rico en cetonas y éteres, ligeramente rico en alcoholes
	aroma	eucaliptado mezclado con frutal, maderoso, balsámico	fresco, menta eucaliptolado
Propiedades físicoquímicas	Índice de refracción (n_D)	1.4736-1.4762	1.4719-1.4741
	Densidad (d_{20})	0.8900-0.9000	0.8900-0.9000
	Rotación óptica (α_D)	-3.155	14.999-15
Otros	Color aceite esencial	Incoloro a amarillo pálido	Incoloro a amarillo pálido
	Rendimiento aceite esencial	1.5 a 2 %	1.5 a 2 %
Actividad antibacteriana		mayor efectividad contra <i>Mycobacterium</i> <i>smegmatis</i>	mayor efectividad contra <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>

Parámetros físicos de los aceites esenciales.

El rendimiento de los aceites esenciales fue similar en los romeros "M" y "H" y entran dentro del rango descrito mundialmente para la especie *R. officinalis* L. (1.5 a 2%)[1]. Las características de color tampoco son diferentes a los aceites extraídos de esta especie: de incoloro a amarillo pálido.

En cuanto a las propiedades fisicoquímicas de los romeros "M" y "H" encontramos similitudes y diferencias con respecto a la reportada para otros aceites de romero. Desglosemos, los romeros "M" y "H" difieren marcadamente en su rotación óptica. Cabe recordar que este parámetro se evaluó con el aceite extraído de la planta piloto (1ª colecta), por lo que su análisis se restringe exclusivamente a estas muestras. El aceite esencial del romero "M" tuvo una rotación óptica alta y variable (14.999), semejante con la rotación óptica del aceite esencial de Francia estudiado por Chalchat (1993) [61] (*supra* tabla10) y al del aceite esencial de Italia estudiado por Delitala y Soccolini (1980) [4] (*supra* tabla 10). La rotación del romero "H" fue baja ($[\alpha] = -3.15$) y se parece a la del aceite esencial del romero español estudiado por Chalchat 1993 [61] (*supra* tabla 10) y al romero portugués mencionado en AFNOR (1982) [63] (*supra* tabla 10). Si consideramos que esta propiedad depende en la mayoría de las veces de compuestos ópticamente activos como el α -pinene, camphor, borneol [1], podemos tener un acercamiento para explicar las diferencias encontradas en los aceites extraídos en la 1ª colecta: el aceite incoloro del romero "M" y el aceite amarillo pálido del romero "H" presentan una cantidad similar del compuesto α -pinene ("M" 10.50; "H" 9.58), pero la concentración de camphor y borneol es considerablemente mayor en el romero "M" (camphor 21.29; borneol 1.04), comparada con el romero "H" (camphor 6.92; borneol 0.09). Así, la diferencia de estos componentes determinaría las diferencias en la rotación óptica registrada.

La densidad específica de los aceites fue igual para ambos romeros (0.8900 a 0.9000), la cual es considerada baja debido a que presentan una mayor cantidad de monoterpenos (*supra* tablas 16,17 y 18). El aceite esencial de los romeros españoles y portugueses también presentan una gravedad específica baja [61,63].

El índice de refracción presentó diferencias en los aceites de ambos romeros siendo mayor en el romero "H" que a su vez presentó mayor contenido de monoterpenos, este valor entra dentro del rango encontrado en los aceites de romero estudiados en Marruecos [61], España [61,62,63], Portugal [63], Francia [61], Italia [4] Tabla 10.

Factores de Variación cuantitativa de los terpenoides.

Al comparar el aceite esencial de los romeros "M" y "H", se consideró necesario encontrar la variabilidad intrínseca, aquella que habla de diferencias y similitudes entre ambos romeros por su origen botánico y quimiotípico, pues se conocía de antemano que existen factores que afectan la variación de los aceites esenciales (*supra* II.1).

El análisis cuantitativo de los compuestos extraídos en diferente periodo (Plena floración, final de la floración) y con muestras de material seco y fresco permitió reconocer las posibles variaciones debidas a estos factores. En general se presentó un bajo número de compuestos con alta variación entre muestras (*supra* II.19.3).

La extracción y preparación del aceite esencial usando diferentes técnicas (arrastre de vapor en laboratorio, en la planta piloto y de *headspace*), permitió contrastarlas y detectar las variaciones cuantitativas de los compuestos químicos de los aceites esenciales de los romeros "M" y "H".

Cada sistema (planta piloto, sistema de destilación del laboratorio y *headspace*) presentó condiciones que pueden determinar las diferencias cuantitativas de los compuestos, se ha reportado que existe una relación entre la dimensión del aparato de destilación, la presión de agua destilada, la cantidad de planta procesada y el tiempo de destilación [1]:

En la planta piloto, la presión y el tiempo de destilación fueron mayores que los del sistema de destilación del laboratorio, lo cual favorece la separación y extracción de los monoterpenos y sesquiterpenos. En un tiempo de destilación más largo se obtiene una mayor cantidad de sesquiterpenos [1]. Así el β -cariophyllene y cariophyllene oxide presentaron mayor abundancia en las muestras procesadas con este equipo (1^a colecta), obteniendo un aceite completo con monoterpenos y sesquiterpenos.

Con el equipo de destilación de laboratorio, se pudo reproducir la extracción del aceite esencial definiendo bajo las condiciones ya referidas (*supra* II.9.2), el contenido de aceites esenciales durante la floración y al final de la floración, así como, la comparación entre un aceite extraído con material seco y un aceite extraído con material fresco. Los compuestos que predominaron fueron los monoterpenos, debido a que el tiempo de destilación fue menor con respecto al tiempo de destilación de la planta piloto.

Con el método *headspace* los monoterpenos son los que tienen un mayor registro durante el proceso. La ventaja de este método es el tamaño de la muestra, y la evaluación directa del material vegetal. Los compuestos de bajo punto de ebullición y menos polares son mejor representados en el proceso dinámico de *headspace* [117]. Este proceso permite una alta concentración de

compuestos con bajo punto de ebullición. Los monoterpenos más volátiles que se pierden durante el proceso de destilación en un equipo convencional aquí quedan registrados completamente [116], es por eso que el tricyclene, camphene y el α y β -pinene y γ -terpinene tuvieron un mayor registro con este método en los aceites de los dos romeros, sin embargo se ha detectado que el proceso dinámico de *headspace* puede acumular compuestos de alta volatilidad produciendo una sobreproporción de estos, a lo que se le ha llamado "efecto dinámico", por consiguiente los compuestos con alto punto de ebullición se encuentran en bajas concentraciones o bien no son registrados [116], lo cual ocurrió con los sesquiterpenos α -humulene, β -caryophyllene y caryophyllene oxide.

Comparación de los romeros mexicanos vs romeros de Europa y Norteamérica.

Como se había mencionado el romero ha desarrollado diversos quimiotipos, creciendo en áreas climáticas diferentes, el tipo borneol-cineole crece en el norte de África (Marruecos y Túnez), el tipo cineole o eucaliptol en España y el tipo verbenáceo crece en el sur de Francia, Córcega y norte de Italia [1]. Esta ubicación geográfica podría sugerir el origen del romero mexicano, si consideramos que esta planta fue introducida al igual que otras lamiáceas europeas por los españoles [70,71,114,136] y que ambos aceites del romero "M" y "H" son del tipo 1,8 cineole o eucaliptol.

Si comparamos la composición y concentración de los aceites esenciales de los romeros "M" y "H" con la especie *Rosmarinus officinalis* estudiada en el complejo *R. eriocalyx-tomentosus* del sureste español por Soriano-Cano *et al.* (1993) [59], encontramos que el romero "M" presenta semejanza con esta especie, pero no con el aceite del cultivar "H", dado que el porcentaje del myrcene en el romero español es bajo (*supra* Tabla 3). Sin embargo, el romero "H" se acerca más al aceite de Portugal (*supra* Tabla 3), incluso en cuanto a sus propiedades físicas (*supra* Tabla 4), tiene bajo valor de rotación óptica, baja densidad y un similar índice de refracción. Así el origen probable de los romeros "H" y "M" se ilustra en la Fig. 9.

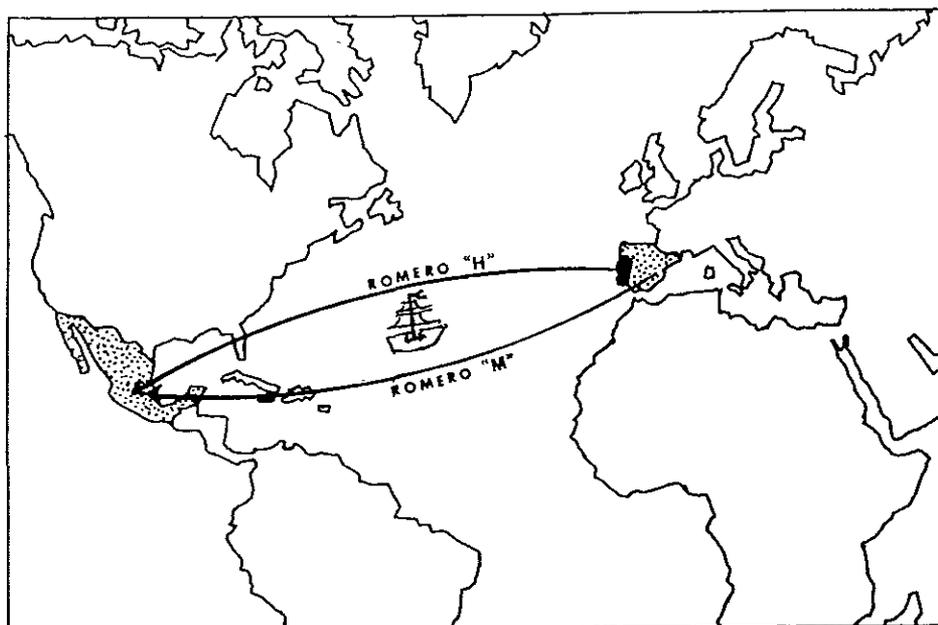


Fig. 9. Origen probable de los romeros "H" y "M".

Otra posible comparación es con los quimiotipos propuestos por Tucker y Maciarelo (1986) [60], ambos aceites de los romeros "M" y "H" estarían en un mismo quimiotipo al que pertenece el cultivar Joyce De Baggio (*R. officinalis* L. var *genuina*): camphor + camphene > 1,8-cineole > α -pinene. Sin embargo la concentración de compuestos agrupados por clases son muy diferentes (*supra* tabla 24). Los alcoholes y cetonas predominan en el cultivar Joyce De Baggio el cual tiene además como compuestos mayoritarios el camphor con 18.9%, el 1,8-cineole menos del 7% y el α -pinene con menos del 3%. Como se puede apreciar este quimiotipo se ajusta a los compuestos mayoritarios de los aceites del romero "M" y "H", sin embargo, las diferencias cualitativas y cuantitativas entre estos aceites y el del Joyce De Baggio son muy diferentes.

Tabla 24. Comparación del porcentaje de concentración por clases de compuestos químicos del aceite esencial de los cultivares de romero Joyce De Baggio, "M" y "H".

	"H" AVL	"M" AVL	Joyce de baggio*
monoterpenos	50.1	44.8	6.02
alcoholes	2.6	3.8	24.92
cetonas	16.2	22	18.89
éteres	15	20	6.42
ésteres	4	3	8.68
sesquiterpenos	9.3	4.1	4.26
Total	97.3	97.7	69.19
NI	1.7	2.3	30.81

NI. No identificados.

*Tucker y Maciarello (1986) [60]

AVL. Arrastre de vapor. Laboratorio.

Pruebas de antibiosis.

Las pruebas de susceptibilidad de difusión de disco realizadas con el aceite esencial de los romeros "M" y "H" indican que ambos tienen una actividad inhibitoria sobre el crecimiento de las bacterias estudiadas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, *Mycobacterium smegmatis*.

Sin embargo la magnitud de las zonas de inhibición fue diferente en los aceites de los romeros "M" y "H" (*supra* Tabla 22).

Actualmente es reconocida la propiedad bactericida y bacteriostática de algunos componentes del aceite esencial del romero: 1,8-cineole, camphor, borneole, linalool, terpinen-4-ol, α -terpineol, bornyl acetate, limonene [74,104]. Estos componentes están en diferente proporción en los aceites estudiados, lo que posiblemente influya en los diferentes halos de inhibición registrados en las pruebas de antibiosis.

También la diferencia en el tamaño de los halos de inhibición de las pruebas realizadas con el aceite extraído en la planta piloto (1997), y el aceite extraído en condiciones de laboratorio (1998) podría ser indicio de los diferentes porcentajes de concentración de éstos componentes, por el momento no hay pruebas para concluir al respecto.

Perspectivas

En el presente estudio se consideraron caracteres morfológicos de la hoja y la flor, compuestos químicos monoterpenos y sesquiterpenos y su actividad antibacteriana. Las dos poblaciones estudiadas constituyen tan solo dos estrellas en el universo de la especie *Rosmarinus officinalis* en México, en un contexto espacial muy específico, por lo que dista aún, tener una idea acabada de la variabilidad morfológica y química de esta planta.

Si bien la revisión de los ejemplares de herbario nos presentó un panorama sobre su distribución, los sitios donde crece, los tipos de vegetación en los que se desarrolla, la forma en que medicinalmente es aprovechado por diferentes grupos y en diferentes estados, queda pendiente examinar otras poblaciones, y otras experiencias de grupos o personas que interaccionan con el romero, pues falta saber que sucede en los 18 estados restantes que no han sido registrados en los herbarios consultados para esta planta.

Las mediciones de los caracteres morfológicos fueron realizadas en plantas frescas, las plantas secas no fueron consideradas en el presente estudio, por lo que se recomienda realizar las mediciones de los caracteres morfológicos en fresco para posteriores comparaciones con los resultados de este trabajo.

Por otro lado, es necesario estudiar los aspectos económicos del cultivo si se piensa en la comercialización del aceite esencial de romero. En cuanto a la extracción industrial del aceite, es la planta piloto el medio ideal para realizar las pruebas de calidad requeridas. Es indispensable considerar la misma cantidad de planta de los grupos que se vayan a comparar, con el fin de tener un mayor control de aquellos parámetros que pudiesen afectar en los resultados y planear un mayor número de repeticiones. Otro aspecto que se debe tomar en cuenta es no separar el aceite que se va destilando sino dejar que se acumule en un solo recipiente y posteriormente separarlo por densidad diferencial para obtener el aceite completo de la destilación para su posterior análisis.

Algunas inquietudes que surgieron en el presente estudio y en perspectiva para futuras investigaciones fueron:

Conocer las características del sistema reproductivo del romero ¿cómo el comportamiento sexual está siendo modificado en esta especie introducida?, si bien, las dos poblaciones de romero estudiadas tienen las mismas condiciones ambientales, la misma exposición solar, la misma edad, y coexisten en un solo sitio, se podría esperar un mismo comportamiento fenológico, sin embargo, se presentó un desfase en el inicio de la floración entre una población y otra y ciclos de floración más largos ¿qué significado podría tener esto en la diferenciación de las dos poblaciones, si a la par encontramos un marcado ginodioicismo temporal, diferentes porcentajes de polen anormal, y un bajo porcentaje de germinación?.

Existe el antecedente del estudio realizado por Ubera-Jiménez e Hidalgo Fernández (1992) , del comportamiento sexual de *Rosmarinus officinalis* para las poblaciones de la Sierra Morena al Sur de España, en las cuales encuentran ginodioicismo temporal [27], habría que corroborar esta información para los romeros que crecen en México. Este estudio sería de gran importancia para conocer posibles barreras reproductivas y flujo de genes entre las poblaciones de romero y entender las transformaciones de una planta introducida que es propagada vegetativamente.

Si nos adentramos a la compleja pregunta de por qué se presentan las diferencias químicas entre el aceite esencial de los romeros "H" y "M" una aproximación a la respuesta, tendría que remitirse necesariamente a la constitución genética de estas plantas y a la biogénesis de los compuestos químicos. Bye *et al* (1991) [137] mencionan que Lewis (1984) esbozó los determinantes en la regulación genética, cromosómica, genómica y ontogénica de los polimorfismos químicos, y que tal diversidad genética es modulada por fuerzas selectivas, eventos naturales, sistemas de entrecruzamiento, tamaño de la población e historia de los taxa. También estos mismos autores destacan la importancia de realizar estudios de las plantas medicinales considerando la constitución genética como variable [137], lo cual sería de gran ayuda en el entendimiento de la variación química de estas plantas.

En esta misma línea, un estudio de hibridación de ADN entre los quimiovarios "H" y "M" y material español y portugués sería indispensable para corroborar el origen probable sugerido en el presente estudio.

Por otro lado, posiblemente surgió la pregunta de cómo se podrían comparar los componentes de los aceites esenciales que provienen de diferentes orígenes habiendo de por medio tantas variables que podrían estar afectando los resultados, aunado a que no se cuenta con una metodología estandarizada para el estudio de los aromas de las plantas. La comparación se realizó considerando lo anterior, con el fin 1) de contrastar la variación infraespecífica, es decir que aún perteneciendo a un solo quimiotipo los cultivares "M", "H" y Joyce de Baggio, que incluso a nivel morfológico entran dentro de la variedad *genuina*, pueden presentar diferencias químicas cualitativas y cuantitativas que son de especial interés en el sentido medicinal e industrial. Así el conocer el quimiotipo o la variedad a la que pertenecen, es tan solo un referente, un nivel de conocimiento, pero no plantea la información completa sobre su caracterización química principal como grupos, y 2) hacer énfasis en la necesidad de estandarizar los métodos de evaluación de los aceites esenciales para poder realizar comparaciones más objetivas.

Una planta produciendo aceites esenciales conlleva una complejidad y exhibe un conjunto amplio de comportamientos: los aceites esenciales pueden ser producidos por procesos anabólicos y catabólicos [56], y son afectados por diversos factores (*supra* II.1), ¿cómo poder evaluar y organizar esta

complejidad?, La descripción de los romeros no es suficiente para distinguirlos es necesario encontrar criterios para agruparlos y reconocerlos. En la clasificación de las plantas medicinales es necesario considerar la diversidad genética y química. Sin embargo, hasta la fecha no ha sido evaluada con precisión esta diversidad en plantas medicinales nativas e introducidas, y pareciera una tarea imposible, si se piensa que el solo inventario químico de una especie aun no ha sido completado [137]. Sin embargo, Bye *et al.* (1991) mencionan que Lewis (1984) y otros autores sugieren patrones que pueden orientar futuros estudios al respecto. Por lo pronto en el estudio y evaluación de esta diversidad es indispensable considerar la riqueza informativa generada bajo diferentes enfoques, disciplinas y poder sistematizarla hacia un conocimiento integral.

Al inicio de este trabajo se señaló que en los sistemas tradicionales y científicos es reconocida la variación infraespecífica de las plantas y sus propiedades medicinales (*supra* Introducción), ambos sistemas cuentan con sus respectivos métodos para generar conocimientos [138]. El presente estudio tuvo como antecedente fundamental, el conocimiento popular tradicional sobre el romero. Los resultados obtenidos son un refuerzo en la necesidad de incorporar el conocimiento tradicional/popular en el estudio de las plantas medicinales.

CONCLUSIONES

En México el romero es una planta medicinal cultivada con aplicaciones médicas importantes, especialmente en el tratamiento de enfermedades del aparato reproductor femenino, digestivas, respiratorias, síndromes de filiación cultural, así como rituales.

Los productores, herbolarios y comerciantes reconocen dos plantas diferentes de la especie *Rosmarinus officinalis* L. a las que denominan romero "macho" y romero "hembra" y las distinguen por el ancho de las hojas, el olor y sus propiedades medicinales.

Los dos cultivares fueron caracterizados botánica y químicamente. Algunos elementos para su tipificación son los mismos que los productores perciben para diferenciarlos. Ambos cultivares de acuerdo con la clasificación de Turrill (1920) pertenecen a la especie *Rosmarinus officinalis* L. var. *genuina*.

Los caracteres distintivos de los romeros "hembra" y "macho" son la longitud del estilo y el ancho de las hojas. Los estilos más largos se encontraron en el romero "hembra" y las hojas más anchas en el romero "macho". La vista ecuatorial-eje ecuatorial y la distancia entre colpos adyacentes son mayores en el polen del romero "hembra".

Los aceites esenciales de ambos romeros son de tipo eucaliptol de acuerdo con la clasificación de Granger (1973). Los compuestos mayoritarios del aceite esencial con el método de arrastre de vapor fueron.

Romero "hembra": 1,8-cineole > camphor > α -pinene > myrcene

Romero "macho": 1,8-cineole > camphor > α -pinene

Los compuestos 1,8-eucaliptol y camphor presentaron mayor concentración en el aceite esencial del romero "M", mientras que en el romero "hembra" el myrcene fue más abundante.

El aceite del romero "H" es más rico en monoterpenos y sesquiterpenos y ligeramente rico en ésteres comparado con el aceite del romero "M" el cual fue ligeramente más rico en alcoholes, y más rico en cetonas y éteres.

Las diferencias cuantitativas de los componentes del aceite esencial, explicaron los aromas del romero "hembra" y el romero "macho". En ambos aromas predomina el eucaliptol, en el romero "hembra" se mezcla con notas frutales, maderosas y balsámicas, mientras que el romero "macho" prevalece el aroma eucaliptolado y notas frescas y mentoladas.

Los aceites esenciales de los dos cultivares estudiados tienen actividad antimicrobiana. El del romero "macho" fue más efectivo contra bacterias Gram⁺ *Staphylococcus aureus* y Gram⁻ *Escherichia coli*, a su vez, el del romero "hembra" fue más efectivo contra la bacteria ácido resistente *Mycobacterium smegmatis*.

Las diferencias morfológicas y químicas encontradas en los romeros "M" y "H" dan pauta para considerarlos en el registro de cultivares de la especie *Rosmarinus officinalis* var. *genuina* en México.

El conocimiento popular/tradicional de las plantas medicinales es una fuente de información insoslayable en el estudio de la variación infraespecífica de estas plantas.

REFERENCIAS.

- [1] Boelens, H. M. 1985. The Essential Oil from *Rosmarinus officinalis* L. Perfumer Flavorist 10(5): 21-36.
- [2] Varro, E. and Ph. D. Tyler 1993. The Honest Herbal. A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedios. Dekker. USA. p.179
- [3] Lawrence B. M. 1992. Chemical Components of Labiatae Oils and Their Exploitation. In R.M. Harley and T. Reynolds (eds.). Advances in Labiatae Science. Royal Botanic Gardens, Kew. p. 399-341
- [4] Delitala, L. F. and F. Soccolini. 1980. Ricerche sul *Rosmarinus officinalis* Linnaeus di Sardegna. Nota 1: Considerazioni Botaniche e Contributo alla Conoscenza del suo Olio Essenziale. Rivista Italiana E.P.P.O.S. 62(4): 195-201.
- [5] Simon, J.E., A.F. Chadwick, L. E. Craker 1984. Herbs: An Indexed Bibliography, 1971-1989. The Scientific Literature on Selected Herbs, and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperate Zone. Archon. p. 770.
- [6] Argueta, V. A., L. Cano, M. E. Rodarte (cords.) 1994. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Instituto Nacional Indigenista. México. p. 1222-1224.
- [7] Aguilar, A., A. Argueta V., L. Cano (cords.) 1994. Flora Medicinal Indigena de México. Instituto Nacional Indigenista. México. Tomo II p 760. Tomo III p. 1086, 1380, 1523.
- [8] Martínez M. 1991. Las Plantas Medicinales de México. 6th ed. Ed Botas. México. p. 280-281.
- [9] Bruneton, J. 1995. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants. Lavoisier Publishing . Paris. p. 220, 405-426.
- [10] Rhyu, H. Y. 1979. Gas Chromatographic: Characterization of oregano and selected spices of the labiatae family. J. Food Sci. 44: 1373-1378.
- [11] Grainge, M. and S. Ahmed. 1987. Handbook of plants with pest-control properties. John Wiley & Sons. New York. p. 237.
- [12] Bonfil B. G. 1987. México Profundo, una civilización negada. SEP.-CIESAS. México. p.37-38.
- [13] Martínez, M. 1979 Nombres comunes y vulgares. FCE. México. p. 439.

- [14] Madueño, M. 1973. Cultivo de Plantas Medicinales. 2ª edición. Madrid. p.400.
- [15] Amaral-Franco J. and M.L. Rocha 1972. Flora Europea. T. G Tuning, V. H. Heywood, N.A. Burges, D.M. Moore, D.H. Valentine, S.M. Walters and D.A. Webb. (eds) Cambridge University Press. Vol 3. p.187.
- [16] Rosúa, J. L. 1986 Contribución al Estudio del género *Rosmarinus* L. en el Mediterráneo occidental. Lagasalia 14(2):179-187
- [17] Rosúa, J. L. 1985 Notas Cariosistemáticas del género *Rosmarinus* L. (Lamiaceae) en la Península Ibérica. Anales Jard. Bot. Madrid 42(1): 93-99.
- [18] Wagstaff, S. J.; R. G. Olmstead and P. D. Cantino. 1995. Parsimony Analysis of CPDNA Restriction site Variation in Subfamily Nepetoideae (Labiatae). American Journal of Botany 82(7): 886-892.
- [19] Bergström, G. 1991. Chemical Ecology of Terpenoid and other Fragrances of angiosperm flowers. In J. B. Harborne and F. A. Tomas-Barberan (eds). Ecological Chemistry and Biochemistry of plant Terpenoids. Oxford Science Publications p. 287-296.
- [20] Johns, T. and Chapman, L. 1995. Phytochemicals Ingested in Traditional diets and Medicines as Modulators of Energy Metabolism. In J. T. Arnason et al (eds). Phytochemistry of Medicinal Plants. Plenum Press, New York. p.171-175
- [21] Aqel, M. B. 1991. Relaxant Effect of the Volatile Oil of *Rosmarinus officinalis* L. on Tracheal Smooth Muscle. J. of Ethnopharmacology, 33:57-62.
- [22] Palacios, P. 1986. Conocimientos y Prácticas Médicas en una Comunidad Campesina. Dirección Centros de Investigación. Universidad Autónoma de Querétaro. p. 149
- [23] Girón, L. M., V. Freire, A. Alonso, A. Cáceres. 1991. Ethnobotanical Survey of the Medicinal Flora Used by the Caribs of Guatemala. J. of Ethnopharmacology, 3:173-187.
- [24] Hayashi, T., M. Arisawa, T. Bandome, Y. Namose, M. Shimizu, S. Susuki, M. Yoshizaki, M. Kawasaki, A. Fujita, H. Ueno, T. Horie, S. Wada, H. Shogawa, N. Morita, L. H. Berganza, E. Ferro and I. Basualdo. 1987. Studies on Medicinal Plants in Paraguay. Studies on "Romero"; Part 1. Planta Med. 53:394.
- [25] Savory Herbs Culture and Use. Farmers' Bulletin Num. 1977 U.S. Department of Agriculture.
- [26] Richards, A.J. 1986. Plant Breeding Systems. Allen Unwin, London. p. 529.

- [27] Ubera-Jiménez, J.L., P.J. Hidalgo Fernández. 1992. Temporal Gynodioecy in *Rosmarinus officinalis*. In R. M. Harley and T. Reynolds (Editors). *Advances in Labiatae Science*, Royal Botanic Gardens, Kew. p. 281-289.
- [28] Nicholson M.S., B. A. Arzeni. 1993. The Market Medicinal Plants of Monterrey Nuevo León, México. *Economic Botany* 47 (2): 184-192.
- [29] Shriner, L. R., R. C. Fuson, D. Y. Curtin. 1982. *Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos*. 5ª Reimpresión. Editorial LIMUSA. México. p. 56, 57.
- [30] Jones, S. B. Jr. 198 . *Sistemática Vegetal*. McGraw Hill de México. 2ª edición p. 536
- [31] <http://herbaria.harvard.edu/china/lamia/rosmarin/.htm>;
- [32] Berlin, B. D. E. Breedlove, P.H. Raven. 1966. Folk Taxonomies and Biological Classification. *Science* 154:273-275.
- [33] Barrera, A. 1979. La Taxonomía Botánica Maya. *Anales de la Sociedad Mexicana de Historia de la Ciencia y de la Tecnología*. 5-21-34.
- [34] Domínguez, X. A. 1973. *Métodos de Investigación Fitoquímica*. Limusa.1ª Edición. México. p. 229-238.
- [35] Dieter, H. 1980. *Fisiología Vegetal. Fundamentos moleculares y Bioquímicos-Fisiológicos del Metabolismo y el Desarrollo*. Ediciones Omega. Barcelona p. 123-130.
- [36] Ross, J. D., C. Sombrero. 1991. Environmental control of essential oil production in Mediterranean plants. In J. B. Harborne and F. A. Tomas-Barberan. *Ecological Chemistry and Biochemistry of plant Terpenoids*. Oxford Science Publications p. 83-94.
- [37] Balandrin, M. F. and J. A. Klocke. 1988. Medicinal, aromatic and industrial materials from plants. In P.S. Bajaj. *Biotechnology in agriculture and forestry, medicinal and aromatic plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, U.S.A. Vol IV. p. 3-36
- [38] Harborne, J.B. . 1973. *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. 2ª edition Chapman and Hall. London. p. 100-108.
- [39] Dewick, P.M. 1997 *Medicinal Natural Products. A biosynthetic Approach*. John Wiley&Sons. New York. p. 154-183.
- [40] <http://pss.uvm.edu/pss123/herrosem.html>

- [41] <http://www.wholeherb.com/ID/HG204A.htm>
- [42] <http://www.smgrowers.com/rosemary.htm>
- [43] <http://Flora.harvard.edu/china/lamia/lami558.htm>
- [44] <http://Flora.harvard.edu/china/lamia/rosmarin.htm>
- [45] Smith, P. M. 1976. The Chemotaxonomy of Plants Contemporary Biology. Ed Edward Arnold. London. p. 107.
- [46] Zlotnik, A. 1995. Anatomía de Plantas Medicinales. Memoria del Primer Seminario Internacional de Investigadores de Xochimilco. p. 423-429.
- [47] http://www-angknufigraz.ac.at/~Katzner/engl/Rosm_off.html
- [48] Linares, M. E., B. Flores, R. Bye. 1990. Selección de Plantas Medicinales de México. 1ª reimpression Editorial Limusa. p. 76,106.
- [49] Rios, J.L., M. C. Recio and A. Villar. 1988. Screening Methods for Natural Products with Antimicrobial Activity: a Review of the Literature. J. of Ethnopharmacology. 23: 127-149.
- [50] <http://www.arg-grin.gov>
- [51] Alcaraz-Araiza, F. J.; P. Sánchez-Gómez; E. Correal-Castellanos. 1989. Catálogo de Plantas Aromáticas Condimenticias y Medicinales de la Región de Murcia. Press Ministerio de agricultura pesca y alimentación. Instituto nacional de investigaciones agrarias. p. 52, 53, 73, 127, 128.
- [52] <http://fisher.bio.umb.edu/pages/JFTrich/trichome.htm>
- [53] http://www.healthcentre.org.uk/hc/alternatives/herbal_monographs/rosemary.htm
- [54] <http://www.pacific.net/~bonsai/rosemary.htm>
- [55] <http://www.botany.com/rosmarinus.htm>
- [56] Harrewijn, P., A. Minks, CH. Mollema. 1994/1995. Evolution of Plant Volatile Production in Insect-Plant Relationships. Chemoecology 5/6.2:55-73.
- [57] <http://hortweb.cas.psu.edu/veg crops/Rosmarinus officinalis.htm>

- [58] Richardson, P.M. 1992. The Chemistry of the Labiatae: An Introduction and Overview. In Harley and T. Reynolds (Editors). *Advances in Labiatae Science*. Royal Botanical Gardens, Kew. p. 291-297.
- [59] Soriano-Cano, M. C., J. A. Sotmayor-Sánchez, P. Sánchez-Gómez, M.C. García-Vallejo. 1993. Essential Oils of the *Rosmarinus eriocalyx-tomentosus* Complex in Southeast Spain. *J. Essent. Res.* 5:243-246.
- [60] Tucker, A. O. and M. J. Maciarello. 1986. The Essential Oils of Some Rosemary Cultivars. *Flavour and Fragrance J.* 1: 137-142.
- [61] Chalchat, J.-C., R.-PH. Garry, A. Michet 1993. Essential Oils of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). The Chemical Composition of oils of Various Originis (Morocco, Spain, France). *J. Essent. Oil Res.*, 5: 613-618.
- [62] Masada, Y. 1976. *Analysis of Essential Oils by Chromatography and Mass Spectrometry*. John Wiley&Sons New York. pp. 42-45.
- [63] Association Francaise de Normalisation (ARNOR) Recueil de Normes Francaises des Huiles Essentielles. 1^{re} edition 1982. Edité par l'AFNOR Toor Europe-Cedex 7 París. p. 240-243.
- [64] Estrada, E. 1986. Jardines Botánicas Comunitarios: Plantas Medicinales. *Revista Chapingo* 10-11(50-51): 17-21.
- [65] Stace. C. A., 1980 *Plant Taxonomy and Biosystematics*. Contemporary Biology. London. p. 573.
- [66] Johns, T. 1990 Human Perception, cognition, and behavior in relation to plant chemicals. Jonhs T. With bitter herbs they shall eat it, *Chemical ecology and the origins of human diet and medicine*. The University of Arizona Press Tucson. p. 111, 160-194.
- [67] Clason, W.E. 1989. *Dictionary of Wild and Cultivated Plants in Latin, English, French, Spanish, Italian, Dutch and German*. Elsevier's. p. 125.
- [68] Sánchez-Monge E. y S Parellada 1981. *Diccionario de Plantas Agrícolas*. Ed. Ministerio de Agricultura. Madrid. p 249.
- [69] Jacobson, M. 1990. *Glossary of Plant-Derived Insect Deterrents*. Department of Agriculture. USA. p. 63-64.
- [70] Ramamoorthy, T.P. and M. Elliott. 1993. Mexican Lamiaceae: Diversity, Distribution, Endemism and Evolution. In T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, J. Fa (Eds) *Biological Diversity of México: Origin and Distribution*. Oxford University Press, Nueva York, p. 513-539.

- [71] Lozoya, X. 1986. La Herbolaria Medicinal de México. En X. Lozoya y C. Zolla (Ed.) La Medicina Invisible. Introducción al Estudio de la Medicinal Tradicional de México. 3ª edición. Folios Ediciones. p. 257-278.
- [72] Krüssmann, G. 1986. Manual of Cultivated Broad-Leaved. Tree&Shrubs Timber Press, Portland, Oregon. p. 258.
- [73] Kovar, K., B. Gropper, D. Friess, H. Ammon. 1987. Blood Levels of 1,8-cineole and Locomotor Activity of Mice after Inhalation and Oral administration of Rosemary Oil. *Planta Medica* 53(4):315-318.
- [74] Duke, A. J. 1995. Sinergismos Entre Plagidas Naturales. *Biocontrol* 1(2): 1-15.
- [75] Rosúa, J.L. 1981. El Complejo *Rosmarinus eriocalyx-tomentosus* en la Península Ibérica. *Actas III Congr. OPTIMA. Anales Jard Bot. Madrid* 37 (2): 587-595.
- [76] Turrill W.B. 1920. The Genus *Rosmarinus*, *Kew Bull.* p. 105-107
- [77] Espinoza, S. J., C. Castellanos, E. Estrada. 1995. Plantas Medicinales de la Huasteca Hidalguense. En E. Estrada (Ed). *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas. Medicinales de México.* 2ª edición UACH. p. 141-203.
- [78] Lara O. F., C. Márquez. 1996. Plantas Medicinales de México. Composición, Usos y Actividad Biológica. Dirección General De Publicaciones UNAM. p. 85-89.
- [79] Estrada, E., A. Uribe, E. Estrada. 1995. Las Plantas Medicinales y Los Sistemas Tradicionales de Curación del Municipio de Dr. Mora, Guanajuato. En E. Estrada (Ed). *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas. Medicinales de México.* 2ª edición UACH. p. 261-306.
- [80] Solares, A.F. 1995. Capacidad de Regeneración de la corteza y evaluación Fitoquímica antes y después del descortezamiento en cuachalalate. Tesis de Maestría en Ciencias. *Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Programa Forestal, Montecillo, México.* p. 27.
- [81] Moedano G. M. 1986. El Ternazcal, Baño Indígena Tradicional. En X. Lozoya y C. Zolla (Ed.) *La Medicina Invisible. Introducción al Estudio de la Medicinal Tradicional de México.* 3ª edición. Folios Ediciones. p. 279-303.
- [82] Hernández, R. M. 1986. El Mal de Ojo. Un Estudio en Comunidades Indígenas. En X. Lozoya y C. Zolla (Ed.) *La Medicina Invisible. Introducción al Estudio de la Medicinal Tradicional de México.* 3ª edición. Folios Ediciones. p. 150-162.

- [83] Reagnault-Roger, C. and A. Hamraoui. 1994/1995. Comparison of the Insecticidal effects of Water Extracted and Intact Aromatic Plants on *Acanthoscelides obtectus*, a bruchid beetle pest of Kidney beans. *Chemoecology* 5/6(1):1-5
- [84] Vokou, D; N.S. Margaris; J.M. Lynch. 1984. Effects of Volatile oils from aromatic Shrubs on soil Microorganisms. *Soil Biol. Biochem* 16(5):509-513.
- [85] Rosúa, J.L., A. García-Granados. 1987. Analyse des Huiles Essentielles D'Espèces du Genre *Rosmarinus* L. et Leur Intéret en tant que Caractère Taxonomique. *Plantes Médicinales et phytothérapie*. 21(2):138-143.
- [86] Héthelyi, É., P. Kaposi, J. Domonkos, and Zs. Kernóczi 1987. GC/MS Investigation of the Essential Oils *Rosmarinus officinalis* L. *Acta Pharmaceutica Hungarica* 57, 159-169.
- [87] Cáseres, A., L. Fletes, L. Aguilar, O. Ramírez, L. Figueroa, A. M. Taracena and B. Samayoa. 1993. Plants used in Guatemala for the Treatment of Gastrointestinal Disorders. 3. Confirmation of activity against enterobacterianos 16 plants. *J. of Ethnopharmacology*,1993. 38:31-38.
- [88] Panizzi, L. G. Flamini, P. L. Cioni and I. Morelli. 1993. Composition and Antimicrobial Properties of Essential Oils of Four Mediterranean Lamiaceae. *J. of Ethnopharmacology* 39:167-170.
- [89] Vokou D. 1992. The Allelopathic Potential of Aromatic Shrubs in Phryganic (east Mediterranean) Ecosystems. In Risvi and Risvi (eds) *Allelopathy. Basic and Applied Aspects*. Chapman&Hall. London. p. 303-320.
- [90] Griffiths, M. 1992. *Index of Garden Plants*. Timber Press. Royal Horticultural Society. Portland, Oregon. p. 1012
- [91] Sentíes, A., M. J. Florencio, E. Estrada, 1995. Plantas Medicinales y Sistemas Tradicionales de Curación del Valle de Tehuacán, Puebla. En E. Estrada (Ed). *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas. Medicinales de México*. 2ª edición UACH. p. 205-260.
- [92] Rodríguez J. M., J.M. Rodríguez, M. G. Ramos 1996. Plantas Utilizadas en la Etapa Reproductiva. *Memorias del 1er Congreso Nacional de Plantas Medicinales de México. Primer Simposio sobre Cultivo, Procesamiento y Comercialización de Plantas Medicinales, Aromáticas y Condimenticias*. p. 82.
- [93] Martínez-Alfaro, M. A. 1987. Percepción Botánica en dos Grupos Etnicos de la Sierra Norte de Puebla. *América Indígena*, 47(2):231-240.

- [94] Grainger B. 1996 Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. A Handbook for practice on a Scientific basis. CRC Press. New York. p. 428-430.
- [95] Formacek, K. and K.H. Kubeczka. 1982. Essential Oils Analysis by Capillary Chromatography and Carbon-13 NMR Spectroscopy. J. Wilwy/Sons, New York. Mencionado en B. M. Lawrence (editor). 1981-1987. Essential Oils. Natural Flavor and Fragrance. Materials "Perfumer&Flavorist" Published by Allured Publishing Corporation. New York. p. 115.
- [96] Skrubis, B. G. 1972. Seven Wild aromatic plants growing in Greece and their essential oils. Flavour In., 3, 566-568, 571. B. M. Lawrence (editor). 1979-1980. Essential Oils. Natural Flavor and Fragrance. Materials "Perfumer&Flavorist" Published by Allured Publishing Corporation. New York. p. 50.
- [97] Bayrak, A. and A. Akgül. 1988. A Study on the Composition of Essential Oil of Rosemary. Gıda Sanayii, (5), 20-22. In B. M. Lawrence (ed). 1991 Essential Oils. Natural Flavor and Fragrance. Materials "Perfumer&Flavorist" Published by Allured Publishing Corporation. New York. p. 136-137.
- [98] Fournier, G., A. Habib, F. Safta, S. Guetari and R. Chemli. 1989. Etude de Divers Echantillons d'huile essentielle de Romarin de Tunisie. Plant. Medic. Phytoth., 23, 180-185. In B. M. Lawrence (ed). 1991 Essential Oils. Natural Flavor and Fragrance. Materials "Perfumer&Flavorist" Published by Allured Publishing Corporation. USA. p. 136-137.
- [99] Flament, I., C. Debonneville and A. Furrer. 1993. Volatile Constituents of Roses: Characterization of Cultivars Based on the Headspace Analysis of Living Flower Emissions. In R. Teranishi, R.G. Buttery, H. Sugisawa (eds.) Bioactive Volatile Compounds from Plants. ACS Symposium Series. American Chemical Society. USA. p. 269-281.
- [100] Morales G. G., G. O.Toledo.1987. Contribución al Estudio de la Flora Medicinal y Medicina Tradicional del Municipio de Coxquihui, Veracruz. Tesis para obtener el título de Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM.
- [101] INEGI, 1992. Cuadernos de Información Básica Delegacional. Milpa Alta, D. F. p. 45-47.
- [102] INEGI, 1985. Cartas Edafológica, Tipo de suelo, Topográfica y Climática. (E14; A49). 1:50000.
- [103] Erdtman, G. 1952. Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms. Almqvist and Wiksell, Stockholm. p. 555.

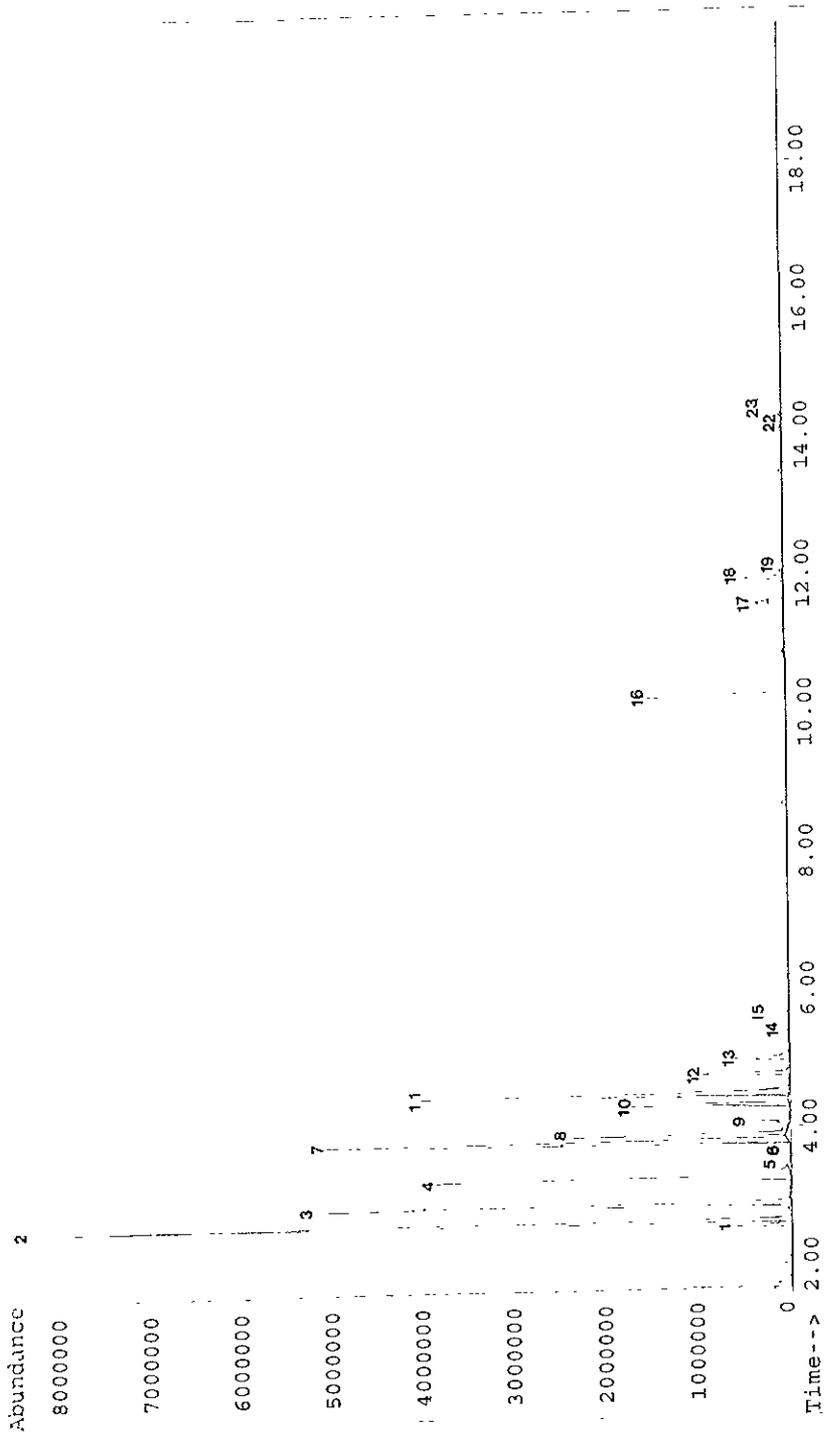
- [104] Dictionary of Natural Products on CD-Rom. from the Publishers of the Dictionary of Organic Compounds. Version 6.2 January, 1998. Chapman & Hall.
- [105] Gijzen, M., E. Lewinsohn, T. J. Savage. 1993. Conifer Monoterpenes. In R. Teranishi, R.G. Buttery, H. Sugisawa (eds.) Bioactive Volatile Compounds from Plants. ACS Symposium Series. American Chemical Society. Washington, DC. pp. 8-22.
- [106] Salcedo, O. N. 1947. Aplicación de un Nuevo Método en la Obtención de Aceites Esenciales, Ensayado en la Flor de Huizache. Tesis para obtener el título de Químico. Facultad de Química. UNAM. p. 1-51.
- [107] Rimpler, H. 1991. Sequestration of Iridoids by Insects. In J. B. Harborne and F. A. Tomas-Barberan (eds.). Ecological Chemistry and Biochemistry of plant Terpenoids. Oxford Science Publications. p. 314-330.
- [108] Ramírez, de la O I. 1984. Germinación del Hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) y Algunas Observaciones Sobre la Germinación del Romero *Rosmarinus officinalis* L. Tesis de Licenciatura Universidad Autónoma de Chapingo. p.34, 35, 60.
- [109] Sanford, T, I. Davidsohn, J. B. Henry. 1990. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. 6ª edición Salvat. p. 985,987,990,1010,1243,1237,1400.
- [110] Erdtman, G. 1960. The Acetolysis Method, a Revised Description. Svensk Bot. Tidskr. 54:561-564.
- [111] Romo de Vivar, A. 1985. Productos Naturales de la Flora Mexicana. Limusa, México. p. 220
- [112] <http://www.ion.com.au/~iridology/Rosmarinus.htm>
- [113] Garza-Velasco, R., E. Peniche-Quintana y S. Manero-Brito. 1998. Bacterias Patógenas de Moda. Educación Química. Revista de la Facultad de Química UNAM. 9,4:200-211.
- [114] Bye, R., E. Linares, E. Estrada. 1995. Biological Diversity of Medicinal Plants in México. In J. T. Arnason et al (eds). Phytochemistry of Medicinal Plants. Plenum Press, New York. p. 65-82.
- [115] Harborn, J. B., B. L. Turner. 1984. Plant Chemosystematics. Academic Press, London. p. 49-74.

- [116] Toyoda, T., I. Nohara, T. Sato. 1993. Headspace analysis of volatile compounds Emitted from various Citrus Blossoms. In R. Teranishi, R.G. Buttery, H. Sugisawa (eds.) Bioactive Volatile Compounds from Plants. ACS Symposium Series. American Chemical Society. Washington, DC. p. 205-219.
- [117] Surburg, H. M. Guentert, H. Harder. 1993. Volatile Compounds from Flowers. Analytical and Olfactory Aspects. In R. Teranishi, R.G. Buttery, H. Sugisawa (eds.) Bioactive Volatile Compounds from Plants. ACS Symposium Series. American Chemical Society. Washington, DC. p. 168-186.
- [118] Bradford, N., F. Begum-Baig. 1997. El Gran Libro de la Medicina Alternativa. Tres Torres EDUNSA. Edición Española. p. 72.
- [119] Ball, V. 1998. Ball Red Book. Ball Publishing. Batavia, Illinois. p. 264-265.
- [120] http://chili.rt66.com/rosmarinus_officinalis.txt.
- [121] <http://www.sequentialhealing.com/herbs/rosemary.html>
- [122] <http://www.imm.org.pl/bird/rosemary.htm>
- [123] Lozoya X., G. Velázquez y A. Flores. 1988. La Medicina Tradicional en México. Experiencias del Programa IMSS-COPLAMAR, 1982-1987. IMSS. México, D.F. pp
- [124] Huberty, C. J. 1994. Applied Discriminant Analysis. John Wiley&Sons Inc. New York. pp
- [125] Eslava G. 1995. Estadística Multivariada. IIMAS. UNAM. pp 1-8
- [126] Aranda, O., I. Méndez 1992. Análisis Discriminante. IIMAS. UNAM. 8 : 151,3-12pp.
- [127] López, G. 1727 Tesoro de Medicinas. Ediciones Colegio Internacional, Vol.25, Guadalajara, Jalisco.
- [128] Esteyneffer, J. 1978 Florilegio Medicinal de Todas las Enfermedades. Colección La historia de la Medicina en México, Ediciones Academia Nacional de Medicina. México D.F.
- [129] Chamblee, T. and B.C. Clark 1993. Lemon and Lime Citrus Essential Oils. Analysis and organoleptic Evaluation. In R. Teranishi, R.G. Buttery, H. Sugisawa (eds.) Bioactive Volatile Compounds from Plants. ACS Symposium Series. American Chemical Society. Washington, DC. p. 168-186.

- [130] Muñoz, G. 1996. Aromas Fragancias. Revista del Consumidor. Num. 229 Mexico D.F. pp 20-22.
- [131] Soliman, F., E. A. El-Kashoury, M.M. Fathy, -, M. H. Gonaïd 1994. Analysis and Biological Activity of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Egypt. Flavour-Fragrance J. vol. 9:1:29-33.
- [132] Héthelyi, É., I. Koczka, P. Tetenyi. 1989 Phytochemical and Antimicrobial Analysis of Essential Oils. Herba Hungarica 28(1-2):99-116.
- [133] Boatto, G., G. Pintore, M. Palomba, F. De Simone, E. Ramundo, C. Iodice. 1994. Composition and Antibacterial Activity of *Inula helenium* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils. Fitoterapia 65(3): 279-280.
- [134] Hader, A., Z. Hasan, M. Aqel. 1994. Hyperglycemic and Insulin release inhibitory effects of *Rosmarinus officinalis*. J. of Ethnopharmacology 43(3):217-221.
- [135] Bushbauer, G., W. Jager, L. Jirovetz, J. Ilmberger and H. Dietrich. 1993. Therapeutic Properties of Essential and Fragrances. In R. Teranishi, R.G. Buttery, H. Sugisawa (eds.) Bioactive Volatile Compounds from Plants. ACS Symposium Series. American Chemical Society. Washington, DC. p. 159-165.
- [136] Orozco, S. A., N. Diego-Pérez. 1997. Labiadas y Umbelíferas Nativas e Introducidas, en el Valle de México. Acta Etnobotánica 92:447-454.
- [137] Bye, R. E. Estrada L., E. Linares M. 1991. Recursos Genéticos en Plantas Medicinales de México. En E. Estrada (Ed). Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas. Medicinales de México. 3ª edición. Universidad Autónoma de Chapingo. p. 341-359.
- [138] Estrada, E., N. Quezada. 1995. Chamanismo y Plantas Medicinales. En E. Estrada (Ed). Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas. Medicinales de México. 2ª edición. Universidad Autónoma de Chapingo. p. 29-39.
- [139] Sellier, M. and J. Hannoteaux. 1978. Honey Flora: *Rosmarinus officinalis*. Rev Fr Apic. 360: 18-19.
- [140] <http://metalab.unc.edu/herbmedculiner3.html>
- [141] Aguirre, B., G. 1963. Medicina y Magia. El Proceso de Aculturación en la Estructura Colonial. Instituto Nacional Indigenista. México. 2ª impresión. p. 203.
- [142] <http://mobot.mobot.org/Pick/Search/image/imagefr.html>

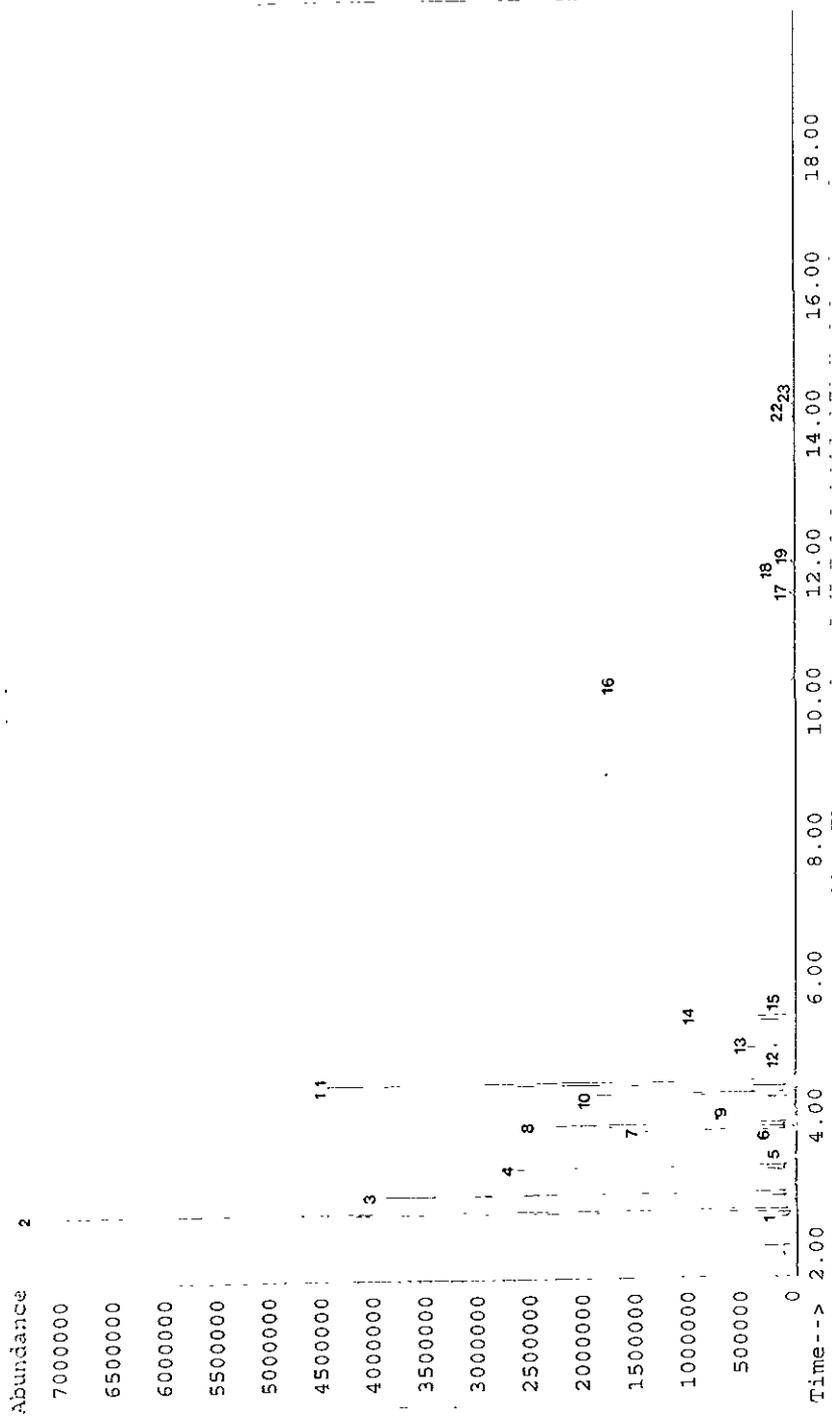
- [143] W. Shakespeare. 1975. *Hamlet*. Num. 86. 7ª edición. Porrúa, S.A. México p. 62.
- [144] Pelt, J. M. 1994. Las plantas: amores y civilizaciones vegetales. Salvat Editores. Barcelona. p. 89-91.
- [145] Trehane, P. and C.D. Brickell, B. R. Baum, W. L. A. Hettterscheid, A. C. Leslie, J. McNeill, S. A. Spongberg, F. Vrugtman (eds.). 1995. International Code of Nomenclature for Cultivated Plants. (ICNCP or Cultivated Plant Code. Wimborne, U K. p 6-9.
- [146] Hancock, L. 1996. ¿Why Do Schools Flunk Biology?. Newsweek. Febrero p. 42-48.
- [147] M. Cervantes S. 1982. El Ingenioso Hidalgo Don Quijote de la Mancha Num. 6. 9ª edición. Porrúa, S.A. México.
- [148] Cedillo P. E., E. Estrada L. 1999. Plantas Medicinales de Tepoztlán Morelos. 1ª edición. Universidad Autónoma de Chapingo. p. 102.
- [149] <http://www.sisweb.com/referenc/applnote/app-28-a.htm>
- [150] <http://www.chemanalysis.com/index.htm>.
- [151] Richard A. 1995. The Molecular Logic of Smell. Scientific American. 273(4):130-137.

ANEXO



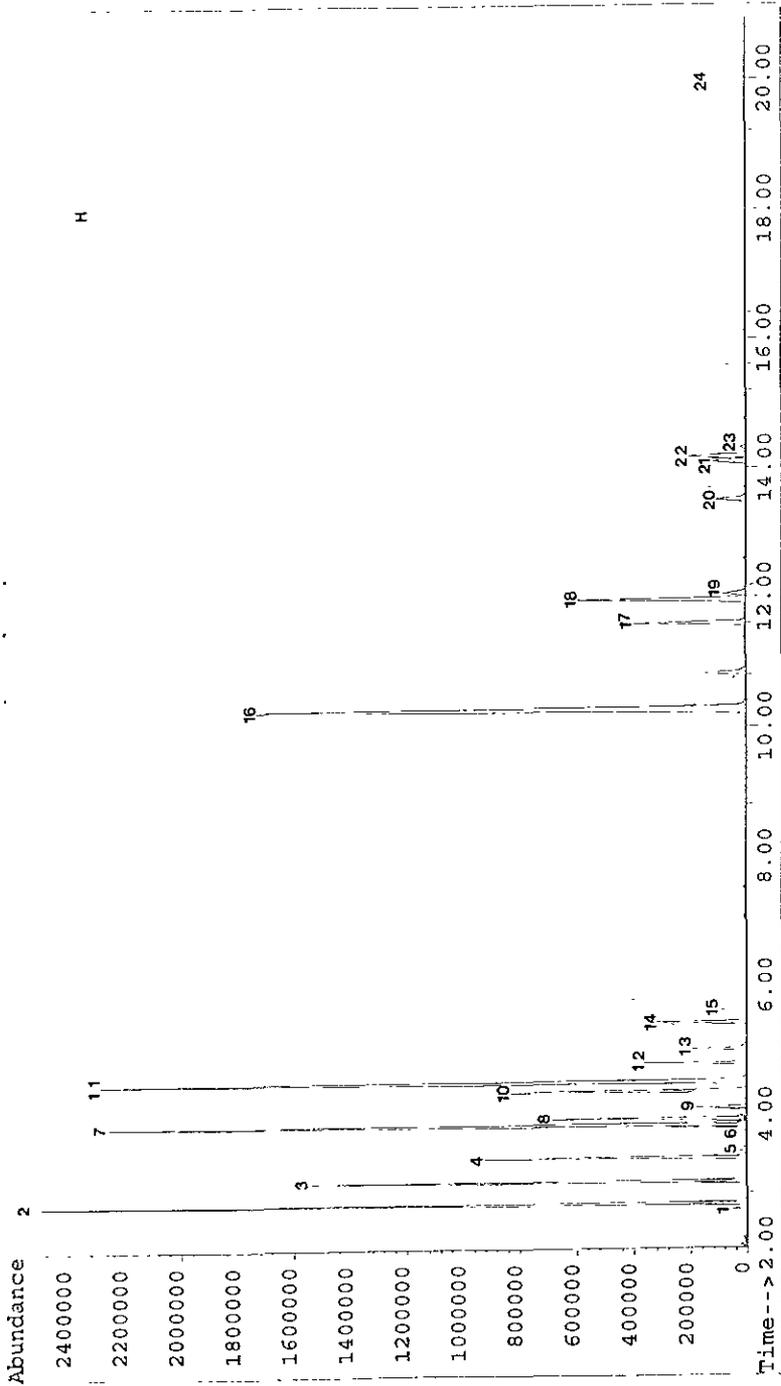
Cromatograma de *Rosmarinus officinalis* L. cultivar "H". Técnica *headspace*.

- 1. tricyclene, 2. α -pinene, 3. camphene, 4. β -pinene, 5. sabinene, 6. Δ -3-carene, 7. myrcene, 8. α -phellandrene, 9. α -terpinene, 10. limonene, 11. 1,8-cineole, 12. cis- β -ocimene, 13. γ -terpinene, 14. p-cymene, 15. terpinolene, 16. camphor, 17. bornyl acetate, 18. β -caryophyllene, 19. terpinen-4-ol, 22. borneol, 23. verbenone

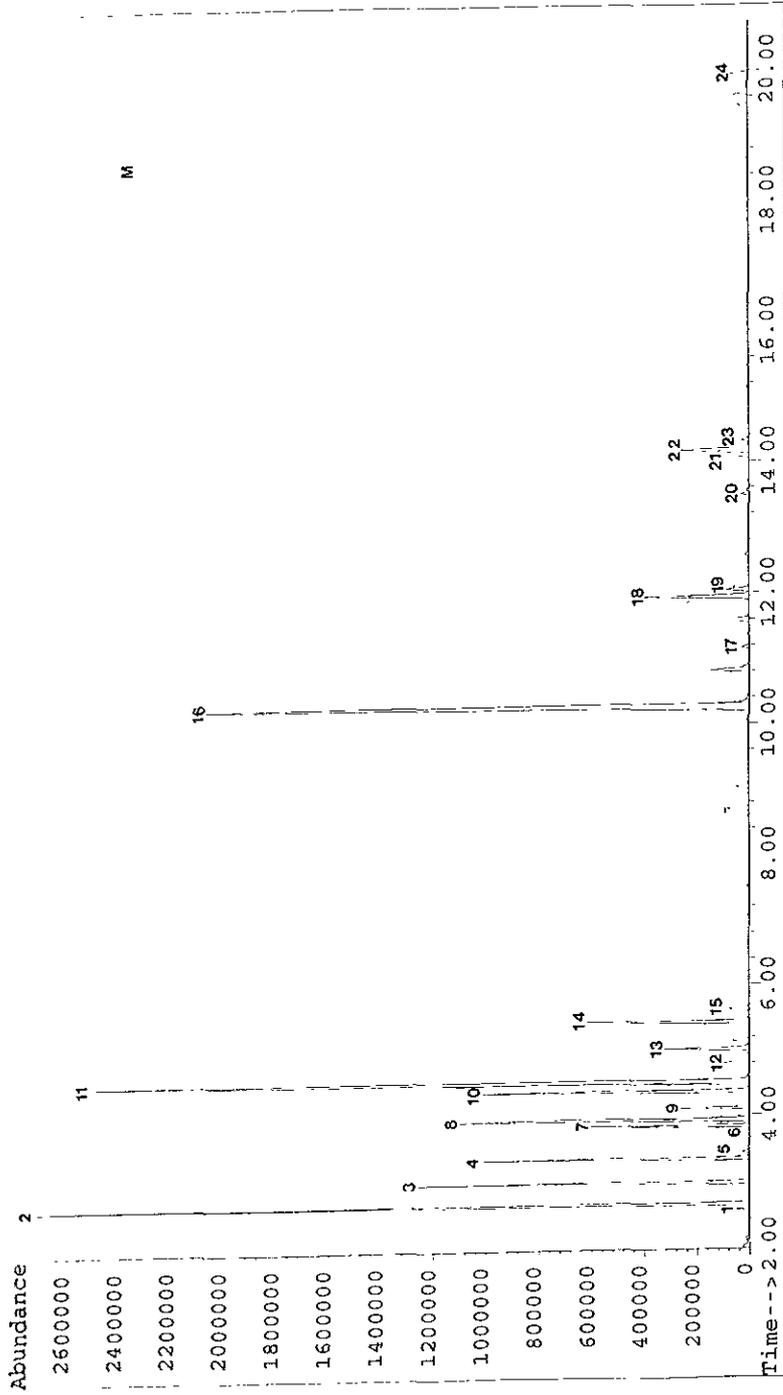


Cromatograma de *Rosmarinus officinalis* L. cultivar "M". Técnica *headspace*.

1. tricyclene, 2. α -pinene, 3. camphene, 4 β -pinene, 5. sabinene, 6. Δ -3-carene, 7. myrcene, 8. α -phellandrene, 9 α -terpinene, 10 limonene, 11 1.8-cineole, 12. cis- β -ocimene, 13. γ -terpinene, 14 p-cymene, 15 terpinolene, 16 camphor, 17. bornyl acetate, 18 β -cariophyllene, 19. terpinen-4-ol, 22 borneol, 23. verbenone

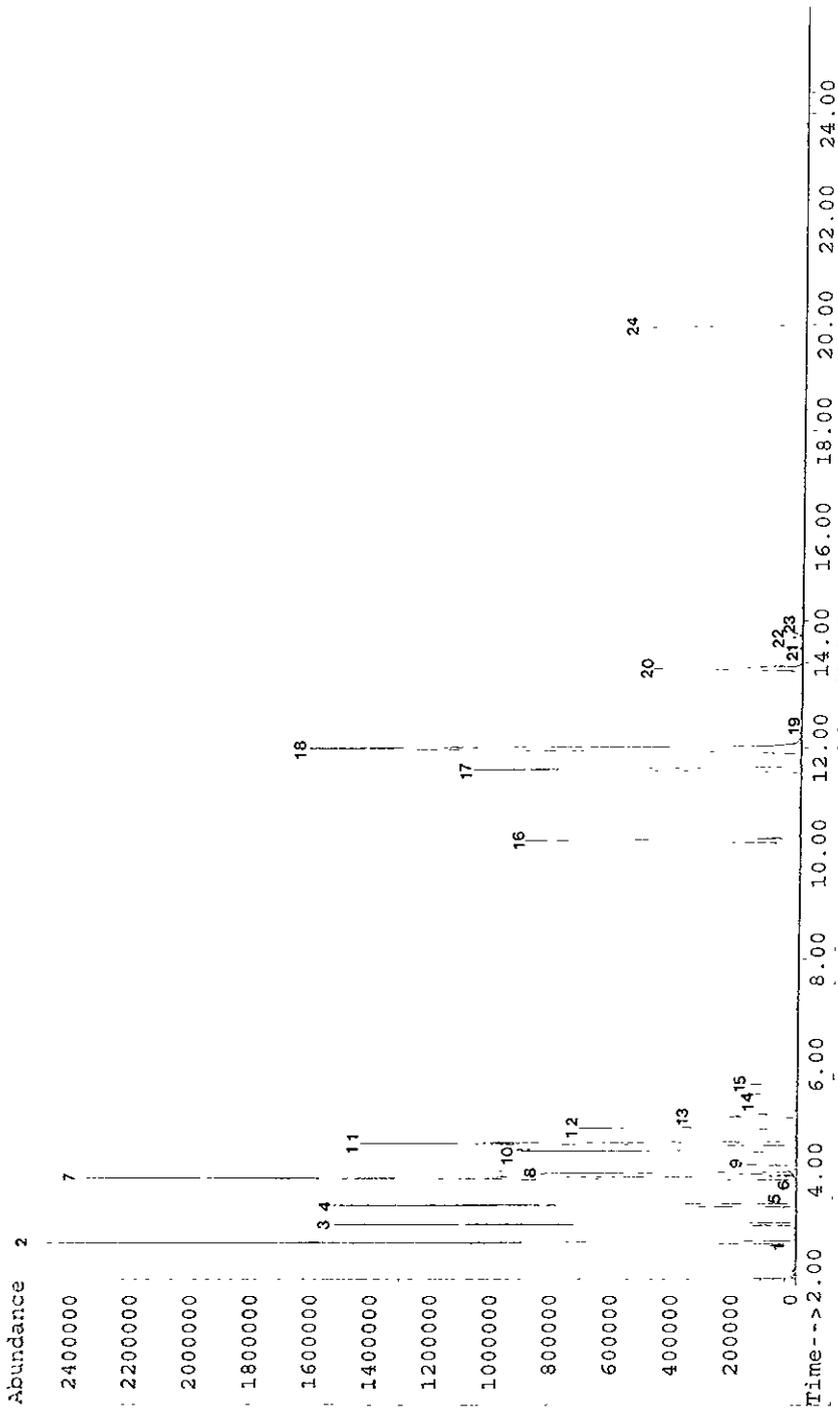


Cromatograma de *Rosmarinus officinalis* L. a) cultivar "H". Arrastre de Vapor. Laboratorio.
 1. tricyclene, 2. α -pinene, 3. camphene, 4. β -pinene, 5. sabinene, 6. Δ -3-carene, 7. myrcene, 8. α -phellandrene, 9. α -terpinene, 10. limonene, 11. 1,8-cineole, 12. cis- β -ocimene, 13. γ -terpinene, 14. p-cymene, 15. terpinolene, 16. camphor, 17. bornyl acetate, 18. β -caryophyllene, 19. terpinen-4-ol, 20. α -humulene, 21. α -terpineol, 22. borneol, 23. verbenone, 24. caryophyllene oxide



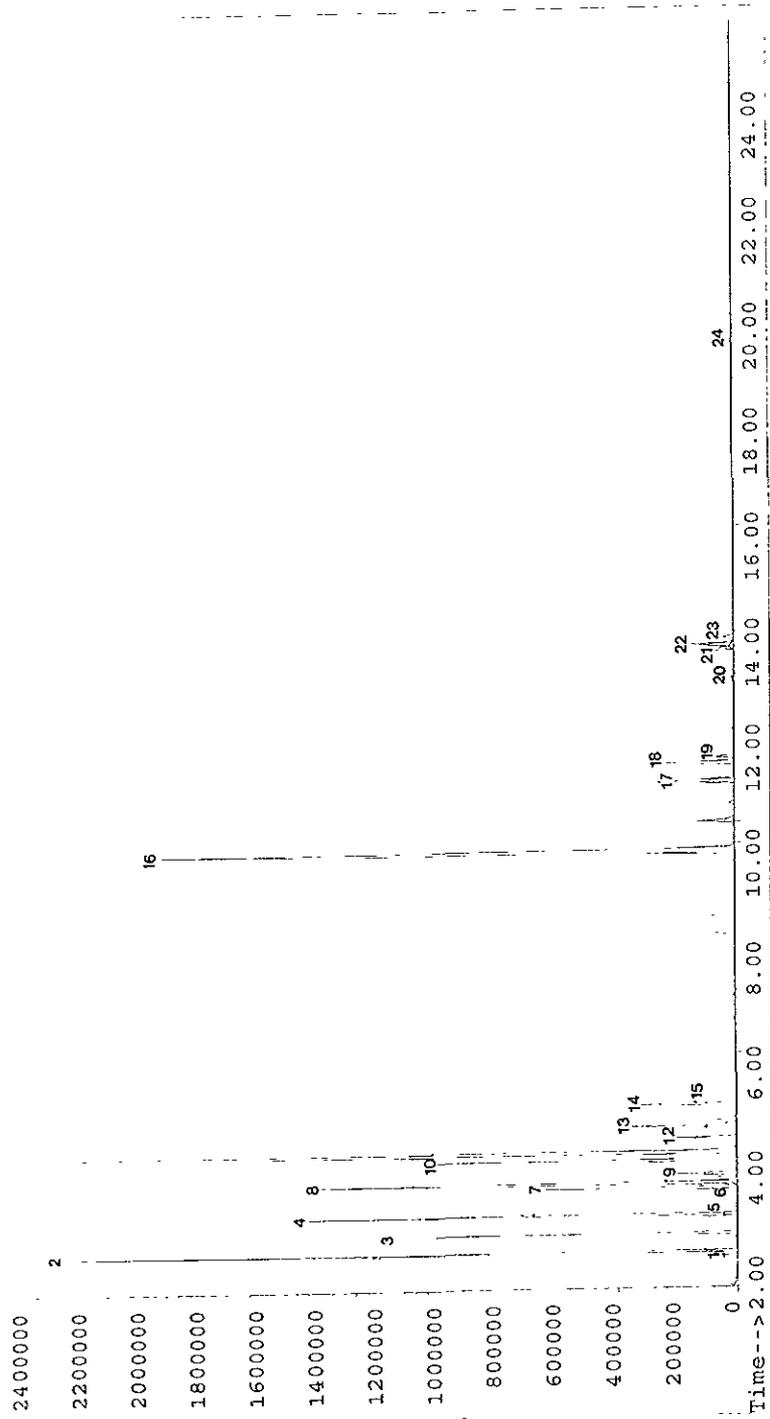
Cromatograma de *Rosmarinus officinalis* L. a) cultivar "M". Arrastre de Vapor. Laboratorio.

1. tricyclene, 2 α -pinene, 3 camphene, 4 β -pinene, 5 sabinene, 6 Δ -3-carene, 7 myrcene, 8 α -phellandrene,
- 9 α -terpinene, 10 limonene, 11 1,8-cineole, 12 cis- β -ocimene, 13 γ -terpinene, 14 p-cymene, 15. terpinolene,
16. camphor, 17 bornyl acetate, 18. β -caryophyllene, 19. terpinen-4-ol, 20 α -humulene, 21. α -terpineol,
22. borneol, 23. verbenone, 24. caryophyllene oxide.

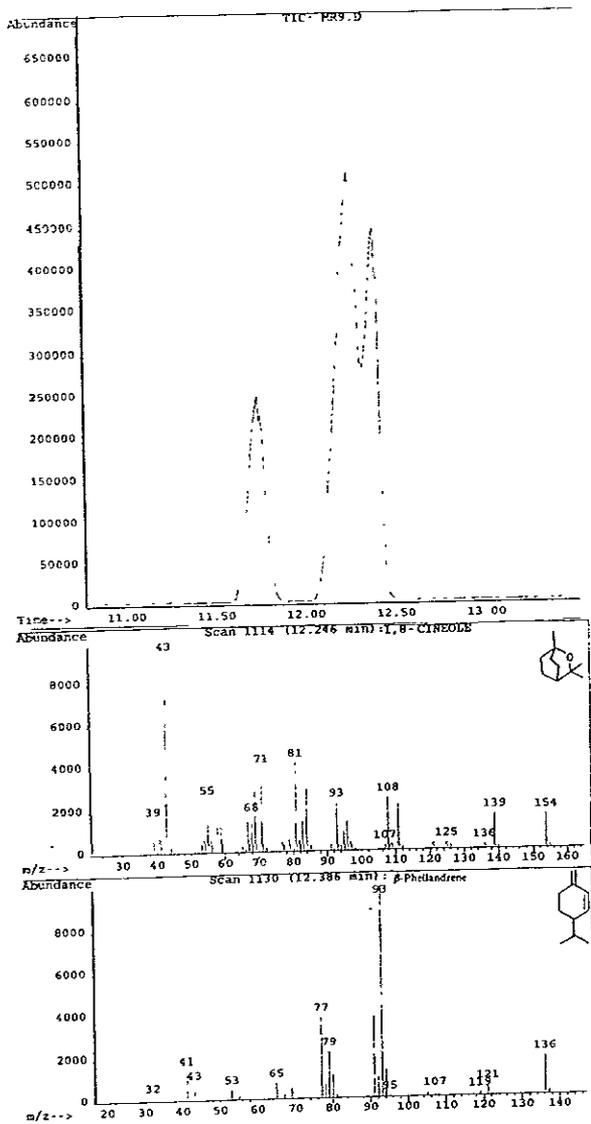


Cromatograma de *Rosmarinus officinalis* L. a cultivar "H". Arrastre de Vapor. Planta piloto.
 1. tricyclene, 2. α -pinene, 3. camphene, 4. β -pinene, 5. sabinene, 6. Δ -3-carene, 7. myrcene, 8. α -phellandrene, 9. α -terpinene, 10. limonene, 11. 1,8-cineole, 12. cis- β -ocimene, 13. γ -terpinene, 14. p-cymene, 15. terpinolene, 16. camphor, 17. bornyl acetate, 18 β -cariophyllene, 19. terpinen-4-ol, 20. α -humulene, 21. α -terpineol, 22. borneol, 23. verbenone, 24. caryophyllene oxide

Abundance 11

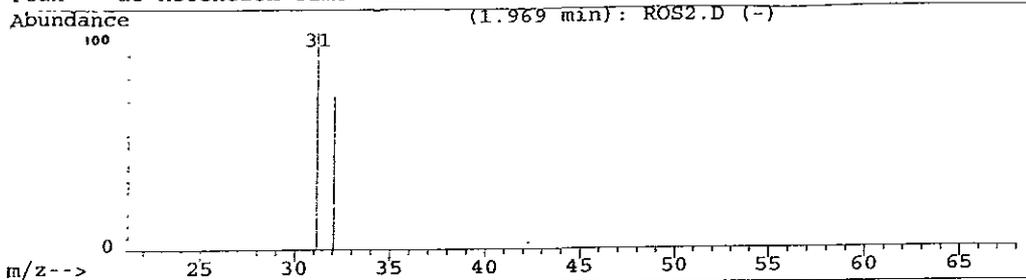


Cromatograma de *Rosmarinus officinalis* L. a cultivar "M". Arrastre de Vapor. Planta piloto.
1. tricyclene, 2. α -pinene, 3. camphene, 4. β -pinene, 5. sabinene, 6. Δ -3-carene, 7. myrcene, 8. α -phellandrene, 9. α -terpinene, 10. limonene, 11. 1,8-cineole, 12. cis- β -ocimene, 13. γ -terpinene, 14. p-cymene, 15. terpinolene, 16. camphor, 17. bornyl acetate, 18. β -caryophyllene, 19. terpinen-4-ol, 20. α -humulene, 21. α -terpineol, 22. borneol, 23. verbenone, 24. caryophyllene oxide.

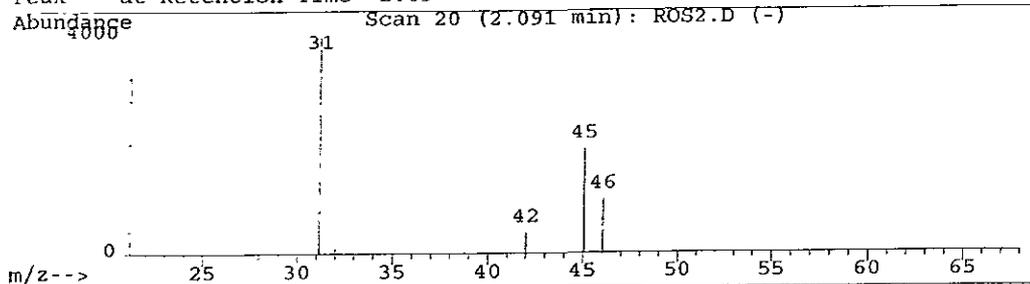


Separación de los componentes 1,8 cineole y β -phellandrene, en las muestras de la primera colecta de los cultivares "M" y "H" de *Rosmarinus officinalis* L.

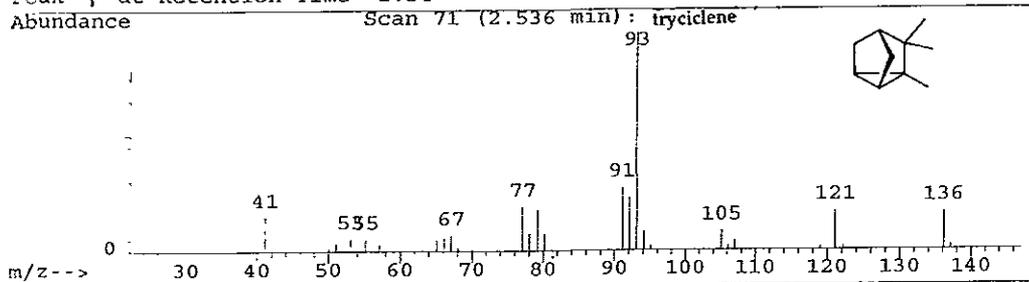
Peak at Retention Time 1.97



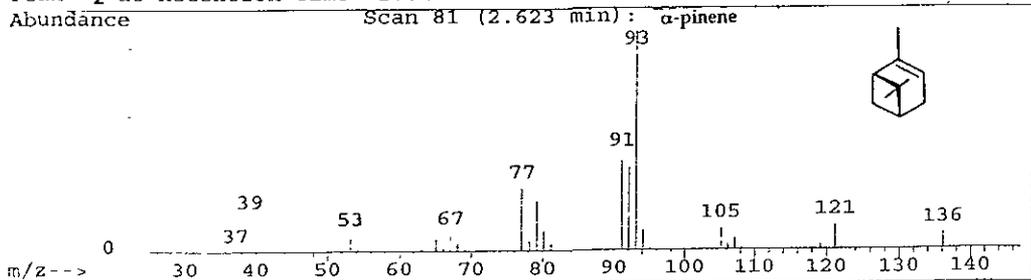
Peak at Retention Time 2.09



Peak 1 at Retention Time 2.54

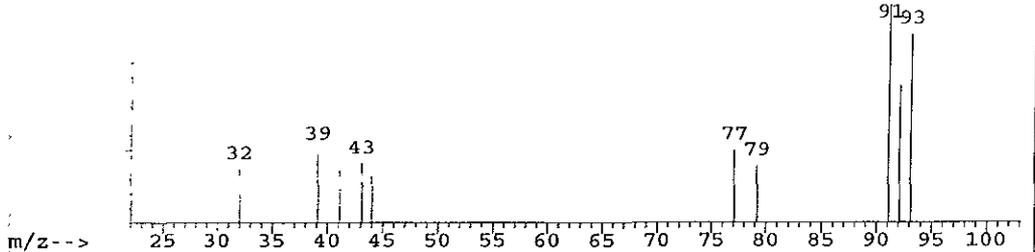


Peak 2 at Retention Time 2.62



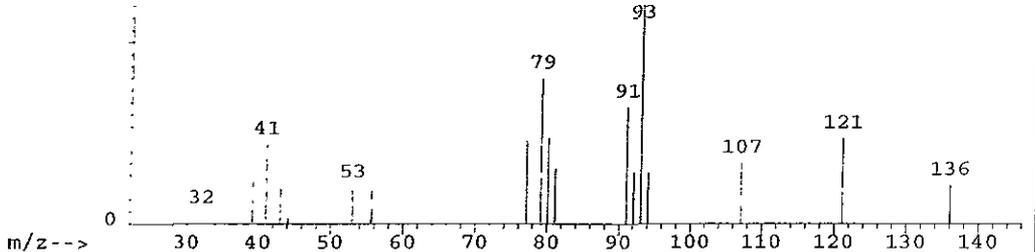
Peak at Retention Time 2.75

Abundance Scan 96 (2.754 min): ROS2.D (-)



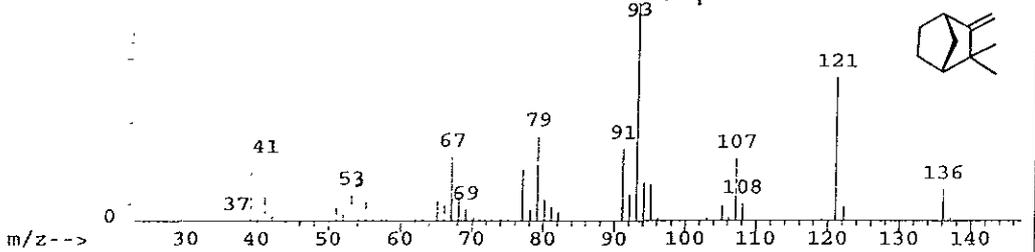
Peak at Retention Time 2.89

Abundance Scan 112 (2.893 min):



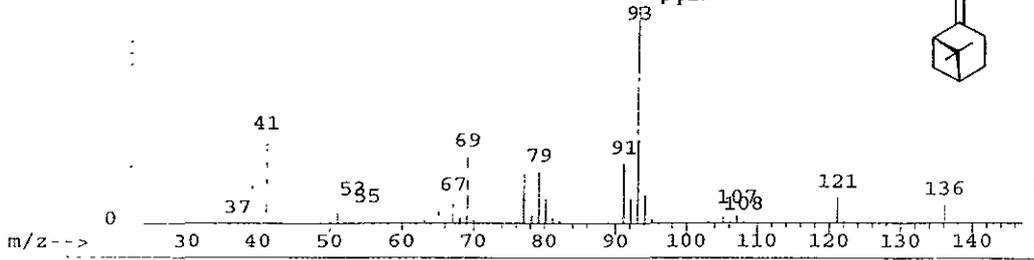
Peak 3 at Retention Time 2.96

Abundance Scan 120 (2.963 min): camphene

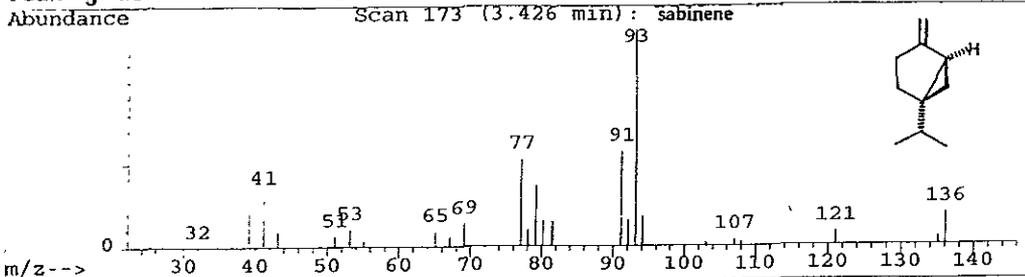


Peak 4 at Retention Time 3.33

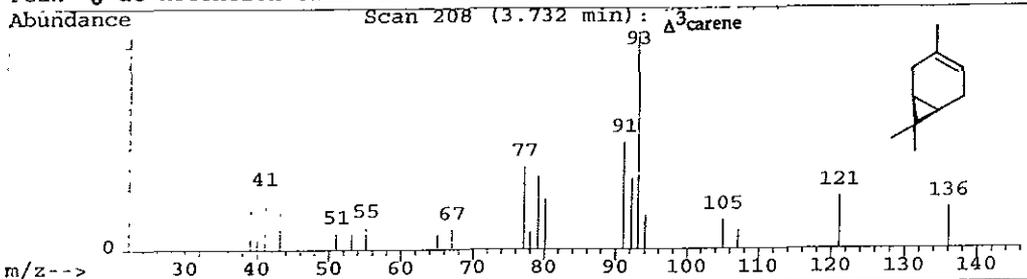
Abundance Scan 162 (3.330 min): β -pinene



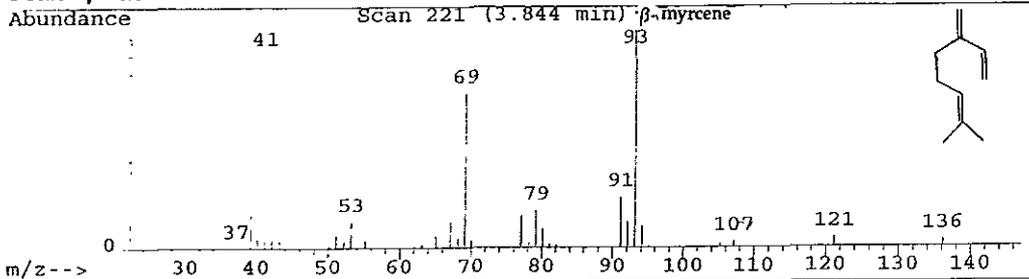
Peak 5 at Retention Time 3.43



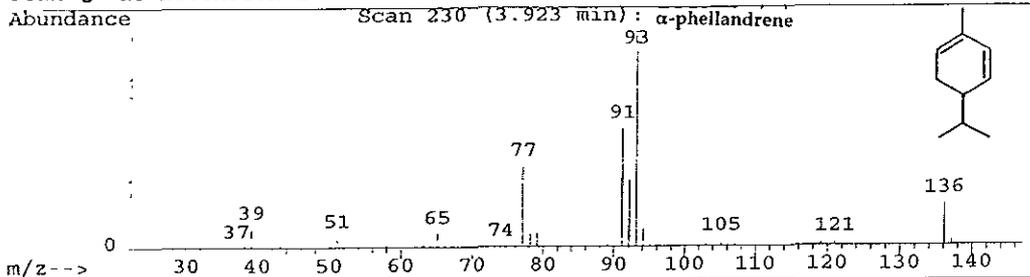
Peak 6 at Retention Time 3.73



Peak 7 at Retention Time 3.84



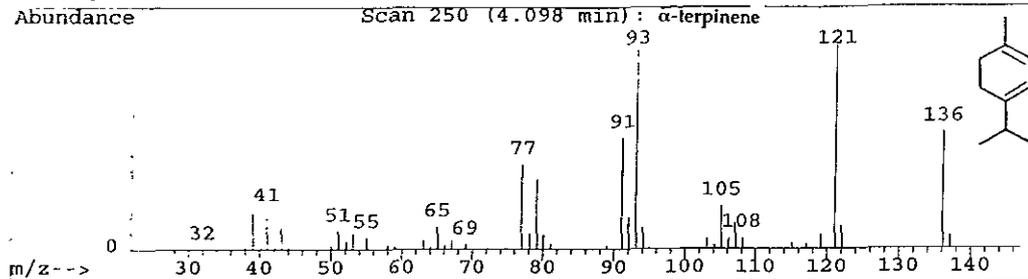
Peak 8 at Retention Time 3.92



Peak 9 at Retention Time 4.10

Abundance

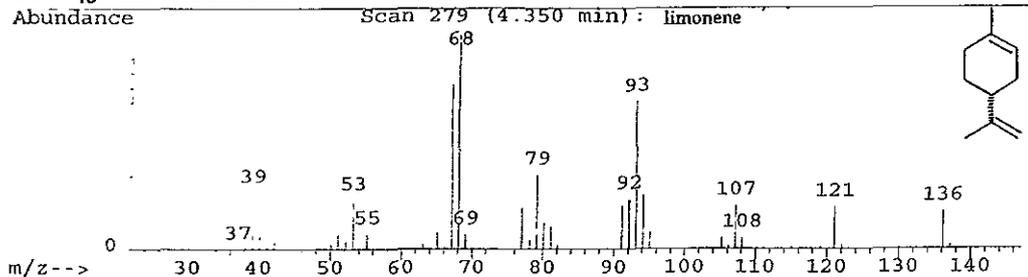
Scan 250 (4.098 min): α -terpinene



Peak 10 at Retention Time 4.35

Abundance

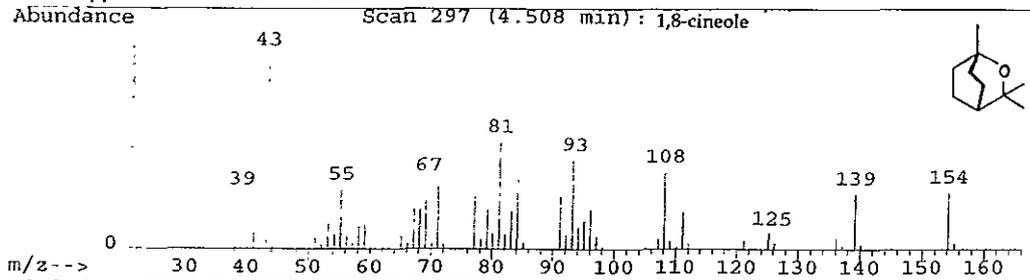
Scan 279 (4.350 min): limonene



Peak 11 at Retention Time 4.51

Abundance

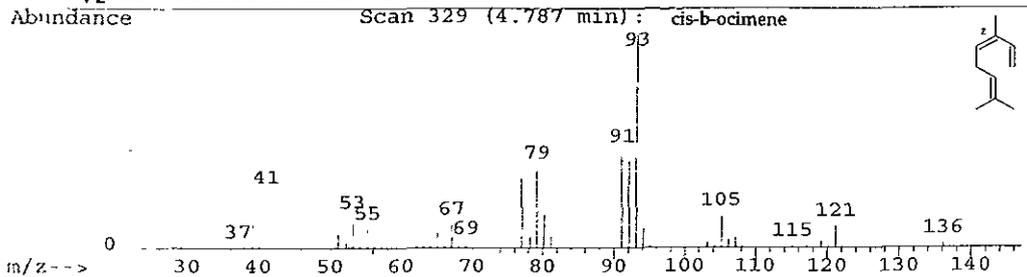
Scan 297 (4.508 min): 1,8-cineole



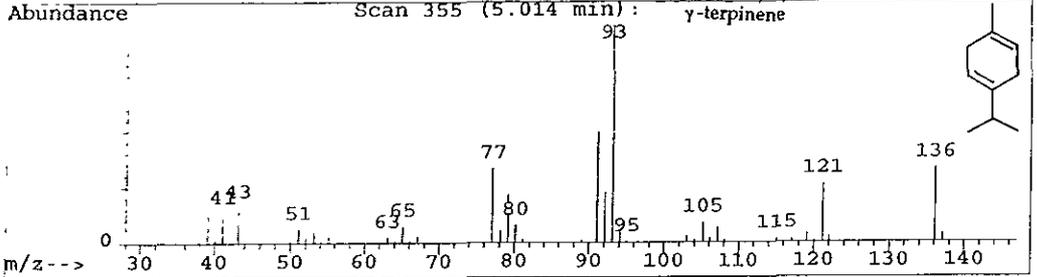
Peak 12 at Retention Time 4.79

Abundance

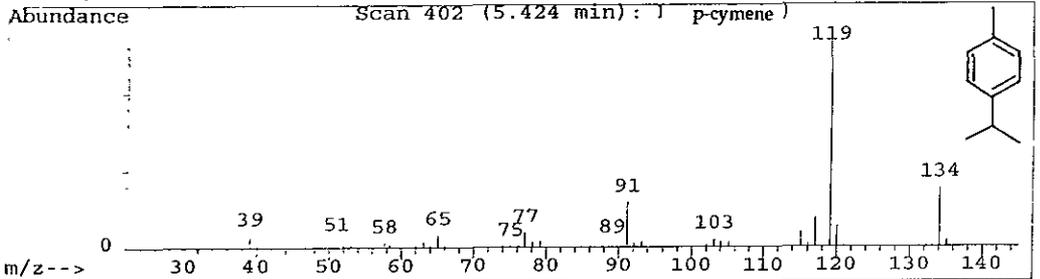
Scan 329 (4.787 min): cis-b-ocimene



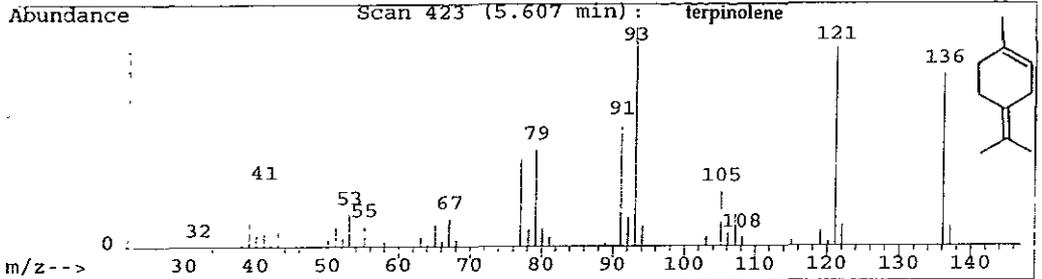
Peak 13 at Retention Time 5.01



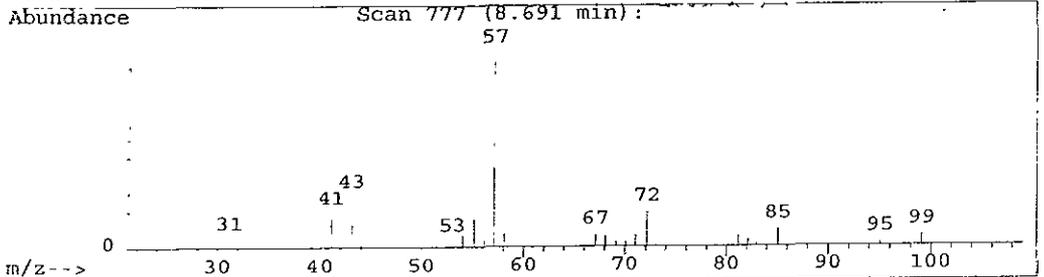
Peak 14 at Retention Time 5.42



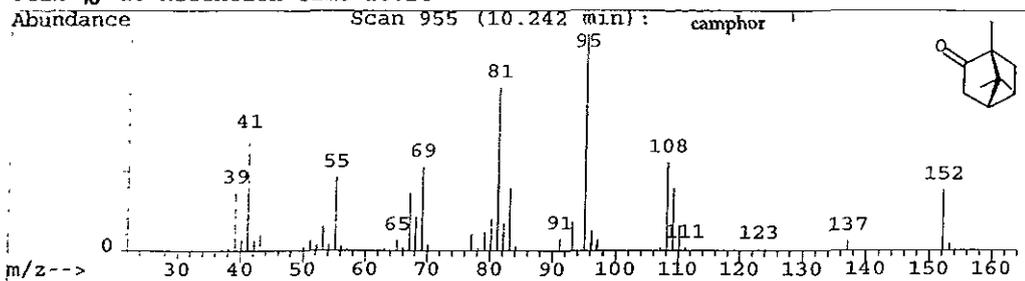
Peak 15 at Retention Time 5.61



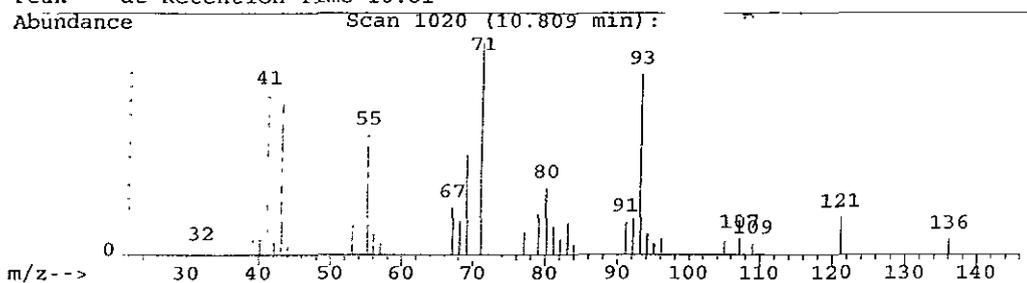
Peak at Retention Time 8.69



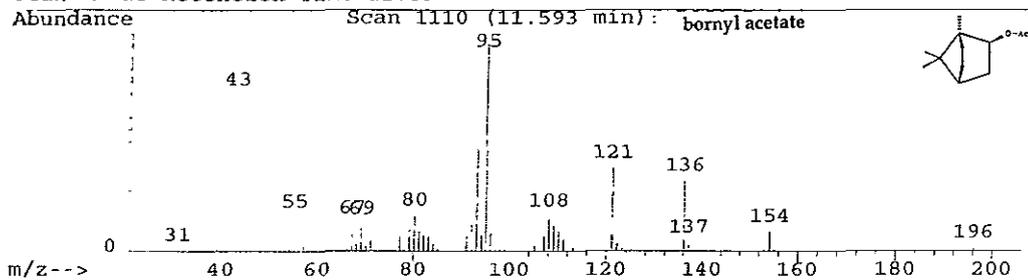
Peak 16 at Retention Time 10.24



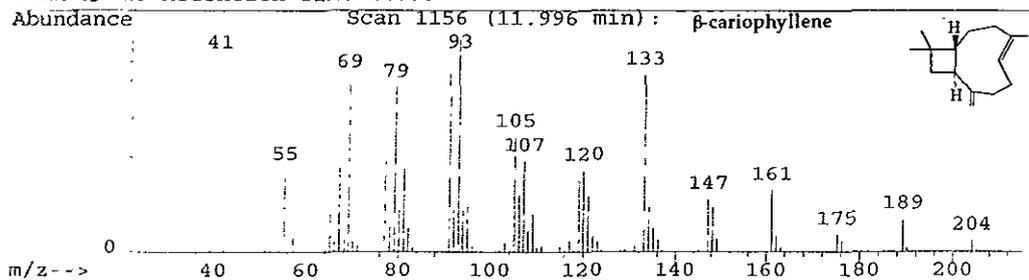
Peak at Retention Time 10.81



Peak 17 at Retention Time 11.59

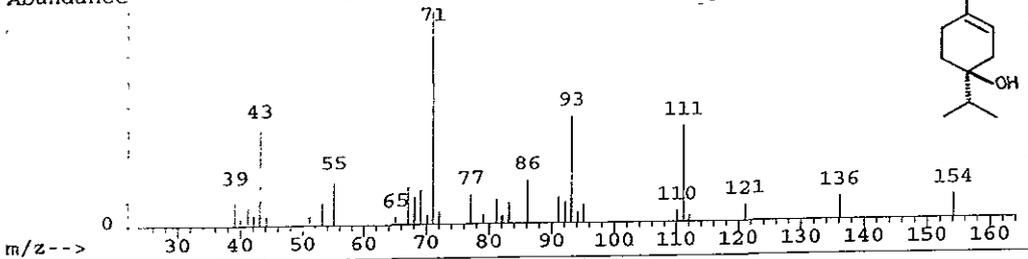


Peak 18 at Retention Time 12.00



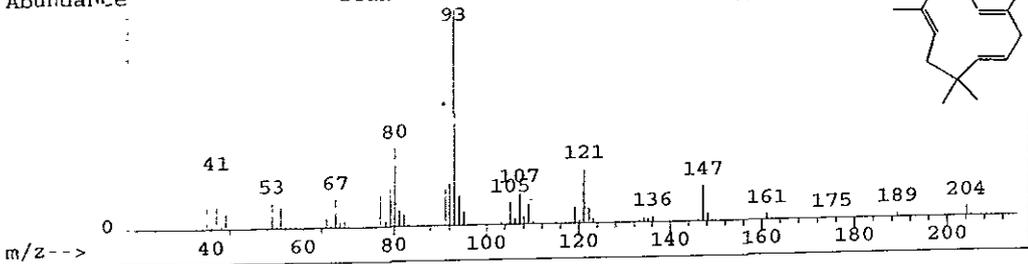
Peak 19 at Retention Time 12.03

Abundance Scan 1160 (12.031 min): terpinen-4-ol



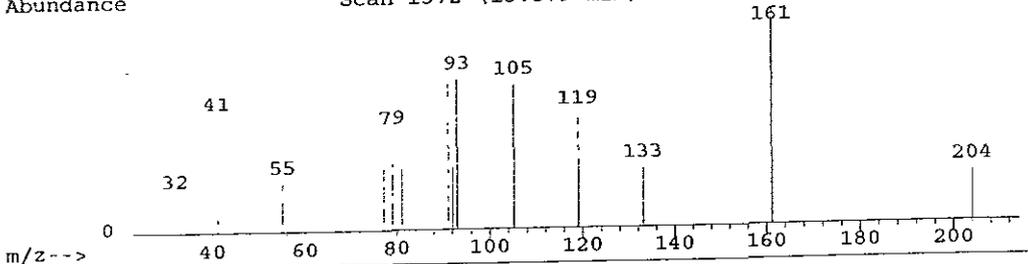
Peak 20 at Retention Time 13.50

Abundance Scan 1328 (13.495 min) α -Humulene



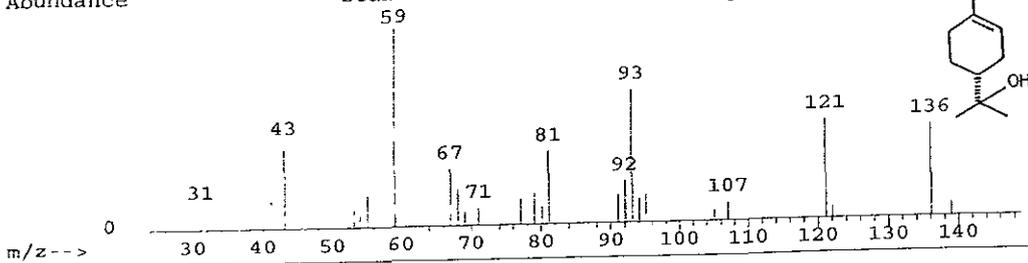
Peak at Retention Time 13.88

Abundance Scan 1372 (13.879 min): ROS2.D (-)

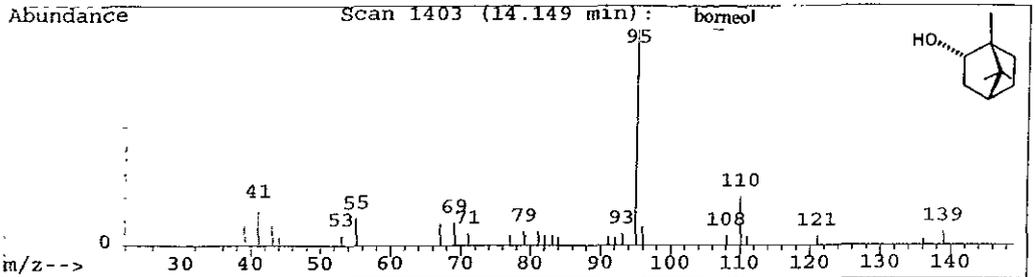


Peak 21 at Retention Time 14.07

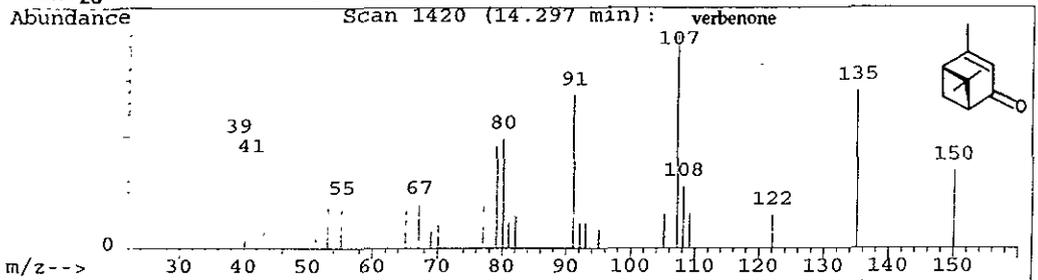
Abundance Scan 1394 (14.071 min): α -terpineol



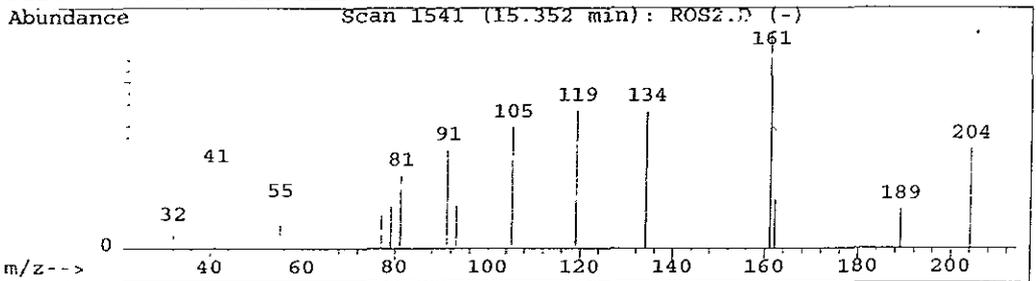
Peak 22 at Retention Time 14.15



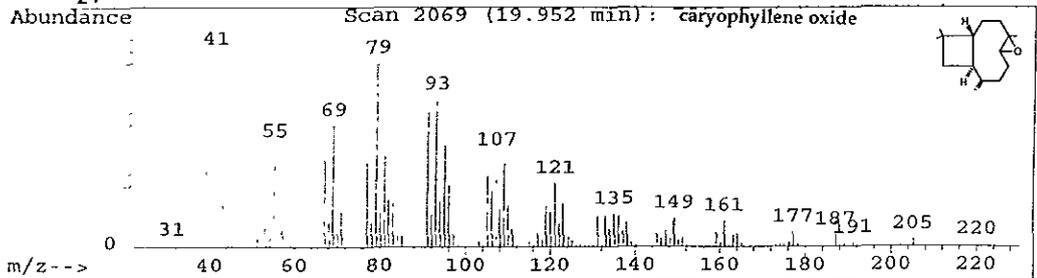
Peak 23 at Retention Time 14.30



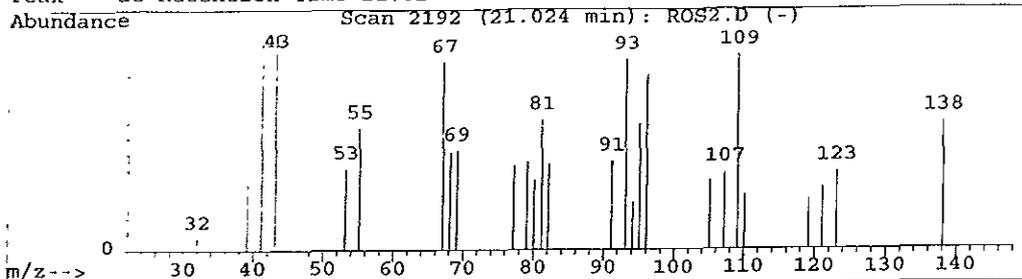
Peak at Retention Time 15.35



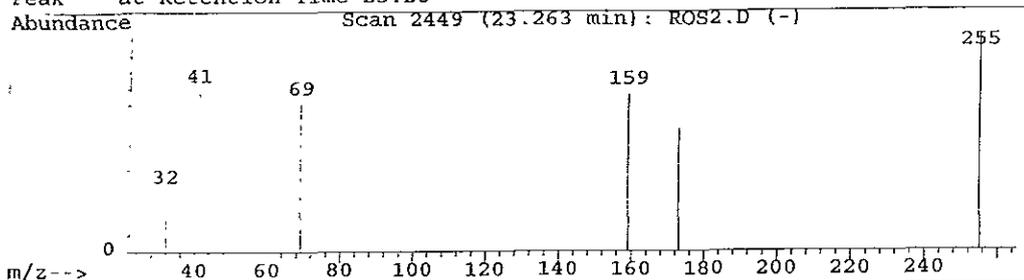
Peak 24 at Retention Time 19.95



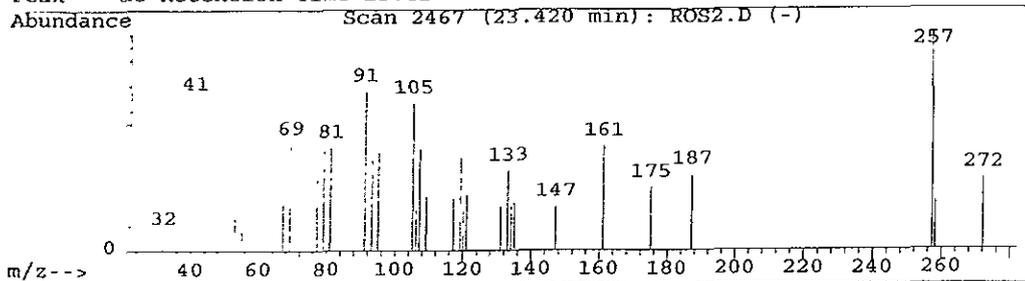
Peak at Retention Time 21.02



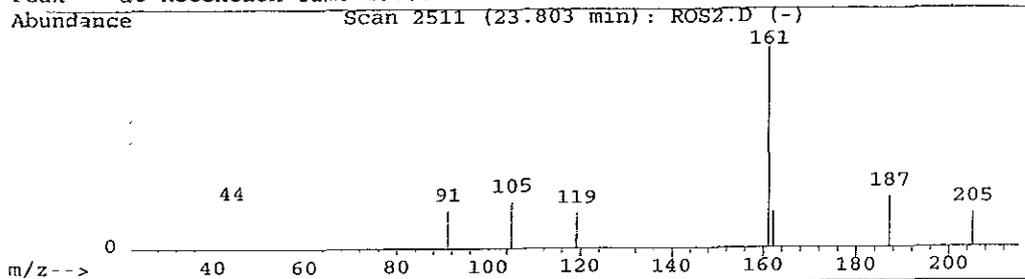
Peak at Retention Time 23.26



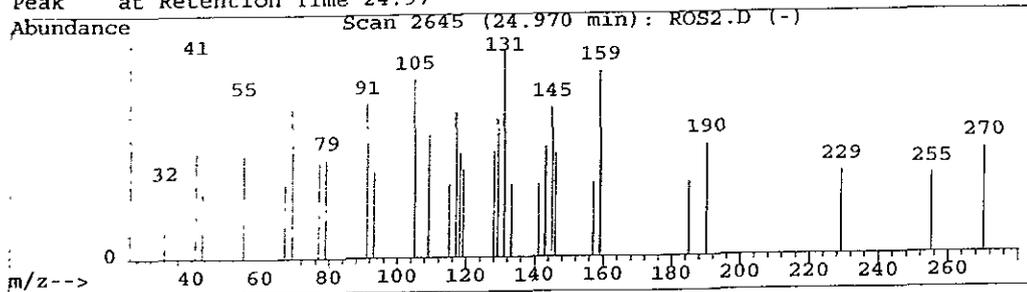
Peak at Retention Time 23.42



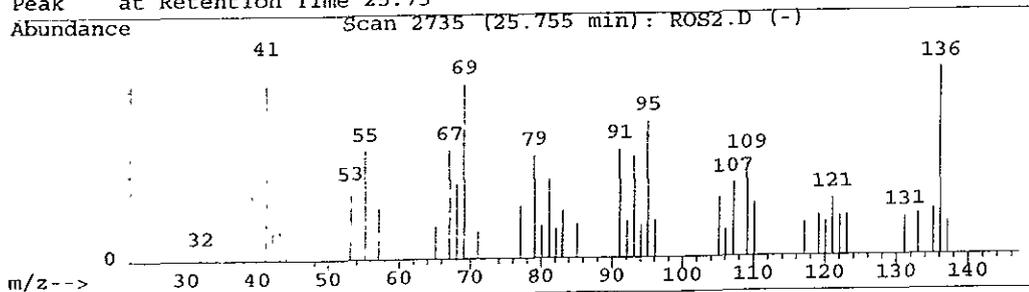
Peak at Retention Time 23.80



Peak at Retention Time 24.97



Peak at Retention Time 25.75



1. rom "H"; 2. rom "M"

Datos. Morfología hojas flores

ROM	CS	CI	ES	ST	CA	PE	HL	HA	ROM	CS	CI	ES	ST	CA	PE	HL	HA
1	10.8	7.3	10.0	19.9	4.7	4.0	22.7	1.8	1	10.0	7.5	10.2	17.8	4.7	4.0	27.1	2.7
1	11.3	6.8	10.0	18.7	5.5	4.0	21.5	2.0	1	10.0	7.0	9.5	15.0	5.0	4.0	22.4	2.2
1	9.8	7.5	10.5	17.5	5.0	4.0	27.2	1.8	1	9.0	7.0	10.2	14.6	5.0	3.6	19.6	2.0
1	12.0	9.6	11.3	19.6	5.2	4.0	25.0	1.8	1	9.8	7.5	10.4	16.6	4.0	5.4	17.6	2.0
1	11.2	8.3	10.1	17.5	5.5	4.0	26.3	2.5	1	10.5	8.5	11.0	18.3	3.5	5.3	25.9	2.0
1	11.0	8.8	10.5	17.7	4.9	4.0	23.0	2.0	1	10.5	7.7	11.8	19.5	4.0	5.0	22.5	2.3
1	10.0	7.0	10.6	19.7	5.5	4.3	20.5	2.0	1	10.5	7.7	10.0	18.0	4.0	5.5	18.6	1.8
1	11.0	8.0	11.3	17.5	5.3	4.0	22.0	2.3	1	10.5	7.0	10.0	19.0	4.2	5.3	17.5	1.5
1	11.0	9.0	10.7	19.2	5.2	4.0	25.0	2.0	1	9.0	7.0	8.7	16.0	4.5	5.0	19.2	2.1
1	10.0	7.3	10.5	17.8	5.4	4.0	21.9	2.0	1	9.0	7.0	8.7	17.5	3.8	4.8	20.4	1.8
1	11.1	8.3	10.9	18.9	6.0	4.0	24.8	2.5	1	9.5	8.0	9.5	19.0	3.8	5.0	15.3	1.7
1	8.9	8.3	9.0	17.8	5.0	3.9	36.0	2.7	1	9.7	7.7	10.2	18.7	4.0	5.0	20.3	1.9
1	10.4	7.4	11.0	18.2	5.4	3.2	32.4	2.3	1	11.0	7.8	10.3	19.5	4.0	4.8	16.5	1.9
1	11.3	8.6	10.0	18.2	5.0	3.7	24.5	2.0	1	9.0	7.5	8.2	17.0	6.0	3.5	24.2	1.5
1	10.5	8.2	10.0	18.7	5.7	3.2	19.3	2.0	1	9.7	6.2	8.2	19.0	6.0	4.3	21.0	1.7
1	9.2	7.3	10.2	16.2	5.5	4.0	12.5	2.0	1	9.0	7.0	7.2	18.2	6.4	4.0	21.4	1.7
1	9.7	8.1	10.2	18.3	5.4	4.5	24.7	2.0	1	9.0	6.6	9.0	18.5	6.4	4.5	20.0	1.5
1	9.5	6.7	8.4	17.5	5.5	4.4	17.3	2.0	1	10.7	8.0	9.5	18.7	5.7	4.5	18.9	1.8
1	9.5	7.5	10.5	16.6	5.4	4.5	16.5	2.2	1	10.0	7.0	10.2	15.3	5.4	5.7	22.0	1.7
1	9.9	6.9	10.5	19.7	5.4	4.0	15.6	2.1	1	10.3	8.5	9.2	16.5	5.0	5.0	21.7	2.0
1	10.4	7.5	10.3	19.9	5.3	3.5	13.3	2.3	1	10.6	8.0	10.7	19.0	5.4	5.2	19.5	1.5
1	10.0	7.2	11.4	18.7	5.5	3.5	11.2	1.9	1	9.5	7.0	9.3	16.2	5.4	5.5	19.7	1.6
1	10.0	7.2	13.0	19.5	5.7	3.6	36.7	1.6	1	10.5	6.7	9.5	16.4	5.0	5.4	18.8	1.5
1	9.6	6.8	11.4	18.7	5.0	3.6	28.3	1.7	1	10.7	8.4	9.7	17.7	5.3	5.5	28.7	1.4
1	10.0	7.2	12.0	19.4	5.6	3.5	21.5	1.7	1	9.0	7.6	9.8	17.3	5.0	5.7	33.6	1.7
1	9.6	7.3	10.7	18.9	5.9	4.5	10.7	2.8	1	8.7	7.0	9.2	16.7	4.7	5.3	31.7	1.7
1	10.3	7.1	12.0	17.5	5.8	4.7	39.4	2.5	1	10.0	8.5	10.5	17.1	4.6	5.0	36.4	1.9
1	10.0	6.9	9.2	18.3	5.5	4.2	35.3	2.3	1	7.8	6.0	2.9	12.0	4.9	2.7	34.6	1.6
1	9.9	8.0	11.4	18.7	5.5	4.5	22.0	2.0	1	11.8	8.9	12.5	18.0	3.5	4.5	23.0	1.6
1	9.5	6.2	12.4	18.2	4.5	3.5	25.0	3.2	1	9.9	7.5	11.5	17.8	4.3	3.5	23.0	1.6
1	9.5	7.3	10.0	17.8	5.2	4.5	26.4	2.7	1	10.2	8.2	11.7	17.6	4.2	4.6	21.8	1.8
1	10.3	7.3	9.0	15.0	5.3	2.9	25.2	1.9	1	9.8	7.7	11.5	16.8	3.2	3.5	23.0	1.8
1	9.6	7.5	9.8	16.0	5.6	3.2	23.0	1.8	1	11.0	8.0	11.0	19.0	3.8	4.7	23.5	1.8
1	9.9	7.0	10.5	19.0	5.5	4.5	21.9	1.9	1	10.0	6.5	8.4	17.5	4.2	4.3	15.3	1.4
1	9.6	7.2	9.3	18.7	5.4	3.3	19.7	1.8	1	9.0	5.9	10.0	15.8	4.6	3.7	16.9	1.7
1	9.6	7.2	10.5	16.0	5.3	2.9	28.7	2.6	1	9.0	7.5	11.4	17.5	3.8	4.0	17.3	1.6
1	9.5	6.4	11.0	16.0	6.0	3.5	21.9	2.5	1	8.5	6.8	8.2	16.3	4.2	3.5	17.9	1.6
1	10.1	8.7	11.0	19.2	5.2	3.9	23.0	1.9	1	8.5	5.5	3.0	12.7	5.0	3.0	16.0	2.6
1	9.3	6.6	9.4	16.9	5.5	3.0	23.2	1.8	1	10.0	7.5	10.5	18.8	4.5	3.0	18.0	2.0
1	10.0	7.5	9.0	14.5	5.5	3.4	22.1	1.9	1	9.5	6.5	10.5	14.5	4.5	3.5	20.0	1.8
1	11.0	7.5	11.0	20.0	5.7	4.0	17.8	2.0	1	10.5	7.2	10.2	15.5	4.8	2.8	18.3	1.8
1	11.0	7.5	10.0	18.8	5.0	3.6	17.6	2.3	1	10.0	7.2	12.0	18.0	5.0	3.1	14.5	1.8
1	10.5	7.0	9.0	19.0	5.0	4.0	19.6	2.0	1	10.5	7.5	10.0	17.2	4.5	4.0	17.4	1.9
1	11.0	7.8	9.5	18.0	5.5	4.3	21.2	2.4	1	10.2	7.7	9.9	18.0	5.5	4.4	15.3	2.2
1	10.6	8.0	10.0	18.5	5.4	3.5	24.3	2.0	1	10.5	8.3	10.6	17.7	5.5	5.4	19.9	2.5
1	10.8	7.0	8.7	17.0	5.4	3.5	22.1	1.8	1	10.5	7.4	11.5	17.3	5.5	5.0	20.3	2.3
1	9.5	7.2	9.0	16.2	5.3	3.3	19.2	2.5	1	10.4	7.4	10.8	19.5	5.4	4.7	17.0	2.2
1	10.0	8.5	9.5	19.0	5.6	5.3	16.6	2.4	1	9.8	6.8	10.2	18.4	5.4	3.2	11.3	1.6

ROM	CS	CI	ES	ST	CA	PE	HL	HA	ROM	CS	CI	ES	ST	CA	PE	HL	HA
2.0	11.7	7.5	7.3	15.0	6.5	3.9	25.0	3.0	2.0	9.0	7.0	6.4	14.2	6.0	3.9	31.5	2.8
2.0	10.5	8.2	8.5	15.0	6.5	3.5	26.0	3.0	2.0	9.5	7.0	7.3	15.2	5.6	3.5	27.4	2.5
2.0	11.6	8.0	8.0	15.4	6.5	3.9	23.0	3.5	2.0	10.0	7.0	7.5	15.5	6.4	3.5	29.3	2.8
2.0	10.0	7.4	8.2	14.5	5.2	4.2	21.3	2.8	2.0	9.0	7.0	6.3	14.5	5.4	3.5	25.1	3.0
2.0	10.0	8.4	7.6	14.7	6.7	3.9	20.5	2.5	2.0	9.3	7.0	6.4	15.0	5.8	3.5	19.4	2.8
2.0	10.3	8.5	9.0	14.9	6.5	3.7	20.2	2.8	2.0	9.0	6.8	6.6	14.8	6.0	3.0	16.0	3.1
2.0	9.6	8.0	7.0	13.7	5.5	3.7	23.5	3.0	2.0	9.0	8.2	8.0	15.0	5.7	3.4	15.4	3.8
2.0	9.2	7.9	7.5	14.1	6.3	3.9	22.4	2.8	2.0	8.3	7.5	7.7	14.5	5.2	3.7	12.8	3.5
2.0	10.0	7.3	8.0	14.7	6.0	3.7	22.5	3.1	2.0	8.5	6.5	7.5	14.2	5.3	3.9	22.3	3.5
2.0	10.0	7.8	8.0	14.9	6.0	3.7	24.1	3.5	2.0	9.0	7.5	8.3	14.4	5.7	3.8	24.5	3.5
2.0	9.8	6.9	9.0	14.1	6.5	3.5	22.7	3.5	2.0	9.0	6.5	8.2	14.0	5.7	3.7	16.1	2.5
2.0	9.1	7.0	8.2	14.2	5.4	3.3	22.3	2.8	2.0	10.0	7.0	8.0	14.6	6.0	4.0	19.4	2.8
2.0	9.2	7.2	9.0	14.4	6.3	4.6	20.0	2.5	2.0	9.0	7.9	8.2	13.0	5.5	4.0	20.5	4.1
2.0	9.4	7.3	8.5	15.0	6.4	2.8	19.6	2.8	2.0	8.5	6.7	8.5	12.0	4.7	3.5	26.4	3.1
2.0	9.5	7.2	8.7	14.0	6.5	4.2	19.6	3.0	2.0	9.0	6.4	8.2	15.4	5.4	3.5	28.4	3.1
2.0	9.0	6.4	7.5	13.8	6.8	3.2	19.4	2.8	2.0	9.0	6.4	7.5	13.3	5.5	3.6	30.0	3.2
2.0	9.5	6.7	9.4	15.0	6.0	3.4	19.5	3.1	2.0	9.0	7.6	9.0	13.9	6.4	3.8	23.0	3.0
2.0	8.5	6.3	8.0	13.0	6.4	3.5	23.0	3.8	2.0	9.5	8.3	9.5	13.6	6.5	3.7	24.5	2.5
2.0	8.5	7.0	8.5	15.0	5.8	3.3	23.0	3.5	2.0	10.0	8.5	9.3	14.9	6.7	4.0	22.7	2.3
2.0	8.2	5.5	8.5	15.0	6.5	3.5	21.0	3.5	2.0	9.0	7.3	7.2	14.2	5.2	4.0	22.7	2.2
2.0	9.0	6.8	8.0	15.3	5.9	3.5	19.4	3.5	2.0	10.2	7.5	8.3	15.5	6.0	4.5	22.7	2.2
2.0	8.7	6.3	9.0	15.0	5.7	3.2	19.5	3.8	2.0	9.8	7.5	8.6	14.3	5.8	3.4	22.3	2.2
2.0	8.5	5.5	8.2	14.8	5.5	3.0	23.0	2.7	2.0	9.5	7.5	8.2	13.6	6.0	4.0	20.0	2.2
2.0	9.0	6.0	8.0	15.0	5.5	3.5	23.0	2.5	2.0	9.2	7.5	8.4	14.8	5.7	3.6	19.6	1.8
2.0	8.5	6.2	9.0	15.0	5.7	3.0	21.0	4.3	2.0	9.2	7.5	7.6	13.5	5.8	3.4	19.6	2.0
2.0	9.0	7.3	8.5	15.0	5.7	3.4	23.0	4.1	2.0	9.0	7.4	8.2	14.5	5.8	3.5	19.4	2.0
2.0	9.0	6.0	9.0	15.5	6.3	4.0	22.0	3.1	2.0	9.0	8.0	8.0	13.6	5.4	4.1	19.5	2.0
2.0	9.0	6.2	8.2	14.7	6.0	3.5	18.0	3.1	2.0	9.9	7.2	7.3	14.3	5.7	3.6	23.0	1.8
2.0	9.0	7.0	8.3	14.3	5.5	3.5	17.6	3.2	2.0	8.4	7.9	7.5	12.7	5.6	3.3	23.0	3.0
2.0	9.2	6.3	8.2	13.2	5.2	3.3	17.0	2.8	2.0	7.2	9.0	7.2	13.0	5.8	3.3	21.0	2.7
2.0	9.0	6.0	8.7	14.5	6.0	3.0	18.4	2.3	2.0	8.5	6.2	4.8	9.0	5.8	4.0	23.0	2.4
2.0	9.0	6.0	8.2	15.0	5.5	3.2	25.0	2.1	2.0	8.0	6.3	7.0	13.8	5.7	3.3	22.0	2.9
2.0	8.7	7.0	8.7	14.5	5.5	3.0	26.0	2.9	2.0	7.5	5.5	2.0	9.5	4.5	2.0	14.6	2.0
2.0	8.9	6.9	7.0	13.0	6.8	2.5	23.0	3.2	2.0	9.5	7.0	8.0	15.5	5.0	3.0	17.5	2.3
2.0	8.7	6.4	8.2	14.1	6.3	3.5	21.3	2.5	2.0	9.5	7.0	8.0	15.5	4.5	2.5	15.6	1.8
2.0	9.0	7.7	7.8	14.4	6.0	4.0	20.2	2.8	2.0	10.5	7.3	8.5	15.0	5.0	2.2	14.3	2.0
2.0	9.0	6.0	8.5	14.0	5.7	2.3	23.5	3.1	2.0	8.3	7.5	7.5	13.7	5.5	2.5	18.0	3.0
2.0	8.7	7.0	7.3	13.5	5.4	2.3	22.4	3.2	2.0	10.0	7.0	10.0	15.0	5.0	3.0	17.6	2.0
2.0	8.9	8.3	8.0	14.5	5.4	3.0	22.5	2.9	2.0	10.3	7.8	10.8	14.8	5.6	4.0	17.0	2.0
2.0	8.7	7.0	8.1	14.0	5.3	2.7	24.1	2.8	2.0	8.3	6.0	4.0	12.8	5.6	3.4	18.4	2.9
2.0	9.5	6.8	6.7	12.7	6.0	3.5	24.0	2.8	2.0	9.4	5.3	7.3	14.3	5.5	4.4	22.4	2.4
2.0	9.0	6.8	6.7	14.0	6.0	4.3	31.2	3.0	2.0	9.0	6.6	7.4	14.4	5.5	3.6	22.3	3.5
2.0	9.8	7.0	6.9	15.0	6.4	4.0	21.5	3.0	2.0	9.0	7.7	8.6	14.0	5.5	3.3	21.6	2.8
2.0	9.5	7.0	6.4	15.0	6.4	4.5	18.8	3.5	2.0	9.7	7.5	7.0	14.2	5.9	3.0	20.8	2.8
2.0	9.4	6.5	8.5	13.5	6.0	2.6	22.2	2.5	2.0	9.0	7.3	7.8	13.8	6.2	3.0	21.6	2.8
2.0	8.8	7.2	8.5	13.5	5.3	3.7	20.6	2.3	2.0	8.7	7.4	7.5	13.7	6.0	3.7	23.7	3.0
2.0	8.5	7.4	8.2	15.0	5.0	3.0	20.2	3.5	2.0	9.7	8.2	7.0	14.6	6.5	4.3	20.5	3.0
2.0	8.8	7.5	8.5	14.2	5.2	3.2	21.7	3.7	2.0	9.7	8.0	7.8	13.7	5.7	3.5	20.6	3.3

polen

DATOS. POLEN

DATOS. POLEN										Continua									
rom	indiv	Vpdima	Vpdime	coad	coop	Vep	vee	rom	indiv	Vpdima	Vpdime	coad	coop	Vep	vee				
1	1	1	49	42	6	14	42	44	1	2	2	48	44	7	14	40	40		
2	1	1	47	40	6	13	37	39	2	2	2	48	41	6	13	41	41		
3	1	1	42	37	7	13	43	38	3	2	2	47	44	6	13	41	41		
4	1	1	48	44	7	14	35	43	4	2	2	47	43	6	14	38	38		
5	1	1	49	43	5	12	45	42	5	2	2	48	44	7	13	43	43		
6	1	1	49	42	6	15	36	44	6	2	2	45	41	6	14	46	46		
7	1	1	50	42	6	14	37	44	7	2	2	47	42	6	13	41	41		
8	1	1	50	44	5	15	40	47	8	2	2	47	43	7	14	38	38		
9	1	1	46	39	7	12	44	46	9	2	2	38	37	6	11	39	39		
10	1	1	45	39	6	12	42	45	10	2	2	47	44	6	13	39	39		
1	1	2	44	38	7	15	43	47	1	2	3	43	40	6	12	40	42		
2	1	2	45	39	7	12	39	45	2	2	3	47	40	5	12	40	39		
3	1	2	54	45	7	15	40	45	3	2	3	47	40	6	13	42	45		
4	1	2	47	42	8	16	39	44	4	2	3	46	41	7	12	41	40		
5	1	2	48	41	7	16	42	44	5	2	3	40	35	6	12	39	39		
6	1	2	46	42	6	15	40	42	6	2	3	44	41	7	13	41	39		
7	1	2	46	42	7	16	42	42	7	2	3	42	40	7	12	40	40		
8	1	2	47	42	5	16	42	45	8	2	3	42	40	6	13	39	41		
9	1	2	46	42	7	15	39	45	9	2	3	44	40	7	14	46	46		
10	1	2	45	37	6	14	42	48	10	2	3	44	41	6	12	40	41		
1	1	3	42	48	6	13	46	42	1	2	4	42	40	7	13	43	40		
2	1	3	48	45	8	12	40	44	2	2	4	41	38	6	12	42	40		
3	1	3	47	42	7	13	40	43	3	2	4	47	43	7	14	42	46		
4	1	3	48	45	8	16	43	45	4	2	4	47	42	7	14	38	40		
5	1	3	48	42	7	15	38	41	5	2	4	49	41	7	14	37	39		
6	1	3	48	40	7	16	44	46	6	2	4	43	37	6	13	40	45		
7	1	3	48	40	7	16	39	47	7	2	4	46	42	7	14	37	43		
8	1	3	50	43	6	14	36	45	8	2	4	43	40	5	14	37	43		
9	1	3	46	40	7	15	36	45	9	2	4	45	42	7	13	43	43		
10	1	3	50	46	7	16	37	46	10	2	4	42	40	7	13	37	42		
1	1	4	51	41	6	14	39	42											
2	1	4	48	40	7	15	41	49											
3	1	4	47	41	7	16	36	50											
4	1	4	55	48	7	16	41	47											
5	1	4	50	42	7	15	45	49											
6	1	4	51	45	7	18	41	44											
7	1	4	47	45	6	15	45	42											
8	1	4	48	42	8	14	40	48											
9	1	4	49	44	8	18	38	45											
10	1	4	41	38	8	18	41	45											
1	2	1	47	43	8	13	35	32											
2	2	1	46	41	8	13	49	35											
3	2	1	47	42	8	13	42	40											
4	2	1	49	41	7	15	40	36											
5	2	1	49	43	8	14	40	39											
6	2	1	46	43	7	13	35	38											
7	2	1	46	43	7	13	40	37											
8	2	1	47	40	7	15	41	40											
9	2	1	45	40	7	13	35	35											
10	2	1	53	47	6	14	40	39											

1="H"

2="M"

compuestos quimicos

1 DATOS COMPUESTOS QUIMICOS

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
rom	try	apin	camp	bppn	sub	cnre	myr	alei	alier	lmo	ctnc	gterp	peym	terp	cam	beem	benry	carv	aliam	aterp	bor	verb	on	
1	1	0.23	11.48	6.69	4.28	0.09	0.05	11.71	3.01	0.91	4.23	17.63	1.77	1.26	1.79	0.51	2.12	2.19	3.28	0.68	0.67	0.96	2.06	0.17
1	2	0.12	7.52	4.65	5.12	0.10	0.08	2.55	6.10	1.18	6.01	20.18	0.88	2.35	3.22	0.64	23.66	2.93	2.76	0.91	0.23	0.84	3.02	0.24
1	1	0.19	11.32	6.29	3.78	0.08	0.04	11.87	3.10	1.01	4.97	15.20	2.09	1.27	2.41	0.58	19.58	2.41	4.30	0.04	0.94	1.28	2.08	0.05
1	2	0.17	9.41	5.31	4.77	0.09	0.11	2.43	5.64	1.27	5.53	20.30	0.74	1.86	3.49	0.52	26.39	1.49	1.46	0.80	0.10	0.71	2.70	0.32
1	1	0.21	10.32	6.62	5.41	0.13	0.05	12.99	3.33	0.90	4.71	15.83	1.25	1.31	1.87	0.59	18.15	3.72	4.93	0.57	0.88	0.85	1.86	0.11
1	2	0.17	10.37	5.38	5.83	0.09	0.04	2.62	6.19	1.22	5.46	20.18	0.69	1.95	2.80	0.55	23.52	2.34	2.78	0.62	0.17	0.67	2.08	0.22
1	1	0.28	11.70	7.41	4.74	0.11	0.04	12.40	3.14	0.91	4.56	16.08	1.85	1.19	1.85	0.51	17.46	2.97	4.93	0.63	0.92	0.95	1.66	0.13
1	2	0.19	11.08	5.82	5.00	0.11	0.09	3.08	5.89	1.36	6.14	19.86	0.77	1.89	3.65	0.53	21.81	1.46	3.20	0.66	0.24	0.70	2.24	0.20
2	1	0.29	11.22	7.38	7.19	0.20	0.04	9.55	3.62	0.57	3.87	15.19	3.35	1.46	0.31	0.57	13.08	6.01	9.44	0.56	1.78	0.63	0.38	0.11
2	2	0.17	9.19	5.44	7.36	0.20	0.08	2.99	7.01	0.91	5.44	20.31	1.50	2.61	1.18	0.66	18.99	4.87	4.51	0.37	0.35	0.51	0.93	0.17
2	1	0.28	12.97	7.86	4.47	0.08	0.04	11.91	3.00	1.08	5.18	16.57	2.20	1.13	2.59	0.50	14.56	2.71	6.38	0.36	1.35	0.55	1.27	0.03
2	2	0.19	10.09	5.94	6.00	0.12	0.10	2.73	5.54	1.40	6.22	19.25	0.93	2.16	4.18	0.56	21.02	2.59	3.12	0.67	0.20	0.45	2.24	0.17
2	1	0.32	11.63	7.73	7.66	0.26	0.04	9.14	3.77	0.69	3.79	11.31	3.24	1.75	0.21	0.66	8.72	7.98	13.6	0.25	2.48	0.53	0.18	0.06
2	2	0.03	10.7	5.63	7.2	0.34	0.09	3.03	7.51	1.18	5.74	19.26	1.63	2.89	1.6	0.74	16.86	5.05	4.49	0.39	0.25	0.43	0.88	0.21
2	2	0.20	11.66	6.00	4.76	0.04	0.11	3	6.72	1.78	6.53	19.97	0.71	2.02	3.75	0.62	20.04	1.77	3.59	0.38	0.24	0.46	1.77	0.19
3	1	0.83	23.41	14.4	5.04	-	0.08	16.11	3.74	1.42	5.18	13.75	2.56	1.17	1.82	0.38	6.32	4.44	0.61	0.07	0.1	0.05	0.2	0.1
3	2	0.58	21.47	11.27	7.06	0.03	0.16	4.26	8.48	2.23	7.12	18.32	0.82	1.74	3.69	0.42	8.40	0.27	0.38	0.11	0.08	0.09	0.35	0.07
3	1	0.93	16.56	13.69	11.84	0.36	0.04	14.95	5.17	0.06	4.44	14.29	4.3	1.37	0.34	0.5	5.06	0.86	1.3	0.08	0.06	0.11	0.12	0.06
3	2	0.61	15.49	10.74	13.28	0.41	0.15	4.48	8.97	1.31	6.06	18.15	1.81	3.01	1.61	0.61	7.96	0.69	0.59	0.13	0.04	0.16	0.22	0.1
3	1	1	16.88	13.34	11.77	0.21	0.08	17.59	5.41	0.87	4.4	13.15	2.37	1.7	0.25	0.55	5.56	1.12	1.41	0.1	0.14	0.12	0.1	0.09
3	2	0.64	18.85	11.33	9.52	0.19	0.17	4.88	8.05	1.9	6.82	18.64	0.5	1.87	3.44	0.47	7.99	0.18	0.63	0.14	0.08	0.18	0.28	0.09

- 1 Arrastre de Vapor laboratorio
- Floración plena
- 2 Arrastre de Vapor laboratorio
- Final de la floración
- 3 *headspace*

rom
1="H"
2="M"