

Influencia de la fertilización en la producción y composición del aceite esencial de *Lippia origanoides* HBK (orégano criollo)

Influence of fertilization in the production and composition of essential oil of *Lippia origanoides* HBK (Creole oregano)

Mgter. Johannes Delgado Ospina,^I DrC. Juan Carlos Menjívar Flores,^{II}
Mgter. Manuel Salvador Sánchez Orozco^{II}

^I Facultad de Ingeniería y Administración. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Colombia.

^{II} Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

RESUMEN

Introducción: *Lippia origanoides* HBK es una planta con un alto valor agroindustrial, la cual es usada como condimento por su gran parecido con el *Origanum vulgare*. Es usada en medicina tradicional para mejorar el funcionamiento gastrointestinal, posee propiedades antiespasmódicas, sedantes, diuréticas y desinfectantes, contra las náuseas, resfrío, tos y asma; se utilizan contra la caspa (*Pityriasis simplex*). Aunque se encuentran muchos estudios que conducen a la caracterización de sus aceites esenciales, no se conocen resultados sobre la relación entre la fertilización y el rendimiento, producción y composición de sus aceites esenciales.

Objetivos: determinar la relación entre la fertilización de tres accesiones de *L. origanoides* (Patía, Típica y Cítrica) y la producción, el rendimiento y la composición de sus aceites esenciales.

Métodos: la fertilización se realizó con solución nutritiva de Hoagland y Arnon modificada, durante 4 meses. Los aceites esenciales se obtuvieron por arrastre con vapor en un equipo tipo Clevenger. Se evaluaron la producción y el rendimiento del aceite esencial, y la composición se determinó por cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas.

Resultados: los máximos rendimientos de aceite esencial por accesión se presentaron en diferentes tratamientos: Patía de 4,65 % (mL/100 g de hojas secas) con el tratamiento 4, Típica 3,72 % con el tratamiento 3 y Cítrica 3,10 % con el tratamiento 10. El timol fue el constituyente más abundante del aceite esencial.

Conclusiones: el nitrógeno fue el elemento que más influyó en el rendimiento y producción de aceites esenciales de las accesiones de *L. origanoides*, a la vez que la disponibilidad de magnesio influyó en la composición porcentual de los monoterpenos presentes en los aceites esenciales. Patía es la más prometedora agroindustrial, por presentar el mayor rendimiento, producción de aceites esenciales y el mayor porcentaje de timol.

Palabras clave: *Lippia origanoides*, Timol, solución nutritiva, plantas medicinales, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

Introduction: *Lippia origanoides* HBK is a plant with a high agro-industrial value, which is used as condiment for its resemblance to the *Origanum vulgare*. Used in traditional medicine to enhance gastrointestinal function; posses antispasmodic, sedative, diuretic and disinfectant properties, moreover it is used against the nausea, colds, coughs and asthma, and is also used against dandruff (*Pityriasis simplex*). Although many studies are conducted related with the characterization of the *Lippia origanoides* essential oils, there are no studies on the relationship between plant fertilization, essential oil production yield and composition.

Objectives: determinate the relationship between fertilization of three different *L. origanoides* accessions (Patía, Típica and Cítrica) and the production, yield and composition of their essential oils.

Method: fertilization was done with nutrient solution modified Hoagland and Arnon, for 4 months. The essential oils obtained by steam distillation in Clevenger type apparatus, and the essential oil production and yield were evaluated. The essential oil composition was determined by gas chromatography coupled to a mass selective detector (GC-MS).

Results: the maximum yield of essential oil (4.65 % - mL/100 g of dry leaves) was showed in the Patía accession treatment 4, followed by Típica accession treatment 3 (3.72 %) and Cítrica accession treatment 10 (3.10 %). Thymol was the most abundant compound present in the essential oil.

Conclusions: The nitrogen was the element that most influenced the yield and production of essential oils *L. origanoides* accessions, while the availability of magnesium influenced the composition of monoterpenes in percentage present in essential oils. Patía is the most agroindustry promising for present the highest yield, production of essential oils and the highest percentage of thymol.

Key words: *Lippia origanoides*, thymol, nutrient solution, medicinal plants, secondary metabolites.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios, máxime monoterpenoides, que producen las plantas y se acumulan en estructuras secretoras ubicadas en diferentes partes de su anatomía, en el caso de *Lippia origanoides* HBK (orégano criollo) el aceite se produce en sus hojas y en menor proporción en los tallos jóvenes y las flores. Por tratarse de productos del metabolismo secundario de las plantas, su producción es minoritaria con respecto a la producción de biomasa. *L. origanoides* es una planta aromática y medicinal originaria de América y el Caribe (México, Guatemala, Cuba, Venezuela, Brasil y Colombia).¹

En México *L. origanoides* es llamada orégano y la Farmacopea Mexicana reconoce que es un sustituto del orégano común (*Lippia graveolens* Kunth). *L. origanoides* se usa como condimento debido a su gran parecido con el orégano; el aceite esencial y las hojas en cocimiento son carminativas y mejoran el funcionamiento gastrointestinal, poseen propiedades antiespasmódicas y contra las náuseas, son sudoríficas, se utilizan como sedantes, tónicas del sistema nervioso, contra resfrío, tos y asma, tienen efecto diurético y desinfectante, son enemagogas y se utilizan contra la caspa. Se ha reportado que el aceite esencial presenta actividad bacteriostática contra tres especies de *Nocardia sp.* y actividad antimicrobiana contra algunas especies de *Candida*, *Staphylococcus aureus*, entre otros. También presenta actividad inhibitoria contra *Trichophyton rubrum* T544.^{2,3}

El contenido de aceites esenciales en una planta, es variable y depende en lo principal de su metabolismo secundario, llega en algunas especies a encontrarse un contenido de hasta el 8 % en condiciones óptimas de extracción. Para *L. origanoides* se han reportado contenidos del 4,4 %^{3,4} y como constituyentes mayoritarios se han reportado timol,^{5,6} carvacrol³ y ρ -cimeno.⁷

Los aceites esenciales pueden variar en calidad, cantidad y composición de acuerdo al método de extracción (hidrodestilación, arrastre con vapor, fluidos supercríticos, hidrodestilación asistida con microondas, entre otros), al clima, a la composición del suelo, al órgano de la planta, a la edad y la etapa del ciclo vegetativo.^{8,9} Se ha encontrado que algunas de las enzimas responsables de formación de los componentes de los aceites esenciales como la γ -Terpineno sintetasa requieren Mg^{2+} como cofactor para su actividad catalítica.¹⁰

Debido a esto, es necesario conocer y conservar cada una de las características que agregan valor a los aceites esenciales, no sólo los derivados del método de extracción, también es importante que cada especie conserve los niveles adecuados de fertilización y manejo agronómico que permitan que la composición y concentración de cada uno de los componentes de los aceites no se pierdan.

La investigación se realizó con el objetivo de determinar la relación entre los niveles de fertilización y el rendimiento y producción del aceite esencial de las accesiones Patía, Cítrica y Típica de *L. origanoides* HBK ya que no se conocen estudios en este campo.

MÉTODOS

El estudio se realizó en los invernaderos y laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, municipio de Palmira, departamento de Valle del Cauca, a 930 m de altitud con temperatura media de 26 °C y 65 % de humedad relativa.

Se utilizaron tres accesiones de *L. origanoides* HBK. (Patía, Cítrica y Típica), existentes en la colección *in vivo* de Plantas Medicinales Nativas, Aromáticas y Condimentarias. A los especímenes se le realizó la identificación taxonómica en el Herbario de la Universidad (Número UNP25251).

Las plantas se multiplicaron con estacas, en semilleros, antes de ser trasplantadas a recipientes individuales que contenían 2 kg de sustrato (turba), previo esterilizado con agua hirviendo (96 °C). Se utilizó un diseño en parcelas divididas, en el que las parcelas principales fueron las accesiones y las subparcelas los tratamientos. Se tuvieron 11 tratamientos, tres accesiones y tres repeticiones para un total de 99 plantas. Para las evaluaciones de rendimiento y composición de los aceites esenciales se utilizó la solución nutritiva de *Hoagland* y *Arnon* modificada (tabla 1).¹¹

Tabla 1. Concentración de nutrientes de la solución nutritiva de *Hoagland* y *Arnon* modificada

Tratamiento	Elemento	Concentración original (mg l ⁻¹)	Concentración modificada (mg l ⁻¹)
1	Control		
2	N	210	158
3	N	210	262
4	P	31	23
5	P	31	39
6	K	235	176
7	K	235	294
8	Mg	49	30
9	Mg	49	72
10	N/K	210 / 235	252 / 188
11	N/K	210 / 235	168 / 282

Las soluciones nutritivas se prepararon con reactivos grado analítico de Panreac Química Sau (ACS-ISO Y PRS-CODEX) en agua destilada, se ajustó el pH a 6,5 con NaOH 0,1 M. Se aplicaron 25 mL de cada solución nutritiva cada dos días cerca de la zona radical durante los primeros dos meses y después se aumentó la frecuencia a aplicación diaria hasta el deshoje de las plantas.

A los dos meses del trasplante se podaron las plantas a una altura de 35 cm para uniformizar su tamaño y a los tres meses de realizada la poda de uniformización se cosecharon, se tomó muestras de hojas de cada tratamiento para realizar los correspondientes análisis.

Efecto de la fertilización con magnesio (Mg)

Se evaluó sobre la base de cambios en la composición porcentual de los principales componentes de los aceites esenciales y cambios en los grupos funcionales (monoterpenos y sesquiterpenos).

Extracción de aceite esencial

Las hojas se secaron al ambiente, durante dos días después de la cosecha (humedad cercana al 12 % determinada en horno a 70 °C por 24 h). Se colocaron 40,00 g en el equipo de extracción tipo Clevenger y se realizó la extracción por arrastre con vapor durante 2 h. Los aceites esenciales obtenidos se secaron con sulfato de sodio anhidro y se midió el volumen obtenido. El rendimiento se expresó como el volumen de aceite esencial obtenido por 100 g de hojas secas (% v/p).

La producción de los aceites esenciales depende de dos factores, primero de la cantidad de hojas que se produzcan en cada cosecha y segundo del rendimiento de los aceites esenciales, se determinó como el volumen total de aceite obtenido sobre el total de hojas cosechadas por planta en cada uno de los tratamientos.

Determinación por Cromatografía de Gases Acoplada a Masas (CG-MS) de la composición química de la fracción volátil y semivolátil de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se analizaron por cromatografía de gases (Agilent Technologies 6890 Plus) acoplada a un detector selectivo de masas (MSD, Agilent Technologies 5973). Los compuestos determinados se identificaron con base en sus índices de retención y espectros de masas, se usó las bases de datos de NIST, Wiley y Adams. El sistema fue operado en modo de barrido completo de radiofrecuencias (full scan). La columna empleada en el análisis fue DB-5MS (J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) (5 %-fenil-poli-dimetilsiloxano), 60 m X 0,25 mm X 0,25 µm). La inyección se realizó en modo split (5:1), Volumen de inyección de 2 µL.

Análisis estadístico

A los datos obtenidos se les realizó Análisis de Varianza (ANOVA) y pruebas de medias (Duncan), se utilizó el programa SAS versión 9.1.3.

RESULTADOS

Rendimiento y producción de aceites esenciales

El rendimiento mayor de aceite esencial en promedio, lo presentó la accesión Patía con 3,82 % (v/p), encontrándose diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre la accesión Patía y las accesiones Típica y Cítrica con 2,27 y 2,20 % (v/p) al respecto ([tabla 2](#)). Dentro de la accesión Patía los mayores rendimientos se lograron con los tratamientos 1 al 7 y 11, fue el tratamiento 4 el mejor (4,65 % (v/p)), se observó que las modificaciones en la concentración de Mg (tratamientos 8 y 9) y el aumento de nitrógeno (N) junto con la disminución del contenido de potasio (K) (tratamiento 10) disminuyen el rendimiento del aceite esencial.

En la accesión Cítrica los mayores rendimientos se obtuvieron con los tratamientos 1 y 6 al 11, fue el tratamiento 10 el mayor (3,10 % (v/p)), las modificaciones en la concentración de N y fósforo (P) tienden a disminuir el rendimiento de los aceites esenciales (tratamientos 2, 3, 4 y 5).

Tabla 2. Rendimiento de aceites esenciales de accesiones de *L. origanoides* sometidas a diferentes niveles de fertilización con solución de Hoagland Arnon Modificada

Tratamiento	Rendimiento (ml aceite/100 g hojas secas)		
	Patía	Cítrica	Típica
1	4,09 a	2,99 a	2,16 b
2	3,95 a	1,40 b	2,41 b
3	3,64 a	1,37 b	3,72 a
4	4,65 a	1,62 b	2,67 a
5	4,13 a	1,18 b	2,03 b
6	3,66 a	2,55 a	2,86 a
7	4,17 a	2,22 a	2,92 a
8	3,34 b	2,57 a	1,51b
9	3,16 b	2,27 a	1,59 b
10	3,10 b	3,10 a	0,75 c
11	4,19 a	2,89 a	2,34 b
PROMEDIO*	3,82 ± 0,33 α	2,20 ± 0,47 β	2,27 ± 0,54 β

Medias con distinta letra en cada columna son estadísticamente diferentes (Duncan, $p \leq 0,05$).

*Promedios con distinta letra son estadísticamente diferentes (Duncan, $p \leq 0,05$).

En la accesión Típica los rendimientos mayores se obtuvieron con los tratamientos 3, 4, 6 y 7, fue el tratamiento 3 el mayor (3,72 % (v/p)), mientras que el menor rendimiento (0,75 % (v/p)) se presentó en el tratamiento 10, tratamiento que aumentó el contenido de N junto con la disminución del contenido de K.

La producción de aceites esenciales muestra una tendencia similar con los resultados de rendimiento, en los cuales se encontró que la producción se afectó por la disminución de N en el tratamiento 2 (tabla 3). La mayor producción de Patía se logró con el tratamiento 7 (aumento de K) con 3,41 mL/planta; Cítrica con el tratamiento 10 (aumento de N, disminución de K) con 2,55 mL/planta y Típica en el tratamiento 3 (aumento de N) con 2,88 mL/planta.

Influencia de la fertilización magnésica sobre la composición de los aceites esenciales

Se reporta la composición química de los metabolitos secundarios volátiles de las diferentes accesiones, los compuestos identificados aparecen listados con su concentración relativa y tratamiento aplicado (tabla 4). En Patía fueron identificados un total de 40 compuestos, los componentes principales fueron: timol (60,3 – 60,5 %), p-cimeno (8,1 – 8,7 %), γ-terpineno (6,6 – 8,7 %), *trans* β-cariofileno (3,4 – 4,7 %) y β-mirceno (3,1 – 3,3 %), estos cinco corresponden al 84 % de todos los compuestos presentes. El 91 % del total de compuestos correspondió a monoterpenos entre los cuales los monoterpenos oxigenados constituyen el grupo más abundante y solo un 8 % corresponde a sesquiterpenos.

Tabla 3. Producción de aceites esenciales de accesiones de *L. origanoides* sometidas a diferentes niveles de fertilización con solución de Hoagland y Arnon modificada.

TRATAMIENTO	PRODUCCIÓN (mL aceite/planta)		
	PATÍA	CÍTRICA	TÍPICA
1	3,10 a	2,23 a	1,74 a
2	2,09 b	0,60 b	1,53 b
3	2,66 a	0,80 b	2,88 a
4	3,33 a	0,97 b	1,84 a
5	2,54 a	0,90 b	1,55 b
6	2,94 a	2,13 a	2,42 a
7	3,41 a	1,76 a	2,30 a
8	3,11 a	2,30 a	1,39 b
9	2,16 b	2,17 a	1,05 b
10	1,46 b	2,55 a	0,54 b
11	1,70 b	1,76 a	1,32 b
PROMEDIO*	2.59 ± 0.44 α	1,65 ± 0,47 β	1,69 ± 0,44 β

Medias con distinta letra en cada columna son estadísticamente diferentes (Duncan, $p \leq 0,05$).

*Promedios con distinta letra son estadísticamente diferentes (Duncan, $p \leq 0,05$).

En Cítrica se identificaron un total de 57 compuestos (tabla 4). Los componentes principales en todos los tratamientos fueron timol (50,9 – 57,9 %), *p*-cimeno (4,6 – 5,6 %), *trans* β -cariofileno (5,2 – 5,3 %), α -humuleno (3,2 %) y γ -terpineno (2,9 – 3,3 %), estos cinco corresponden al 71 % de todos los compuestos presentes.

El 75 % del total de compuestos corresponden a monoterpenos entre los cuales los monoterpenos oxigenados constituyen el grupo más abundante y un 19 % corresponde a sesquiterpenos.

En Típica se identificaron un total de 58 compuestos (tabla 4). Los componentes principales en todos los tratamientos fueron timol (30,1 – 47,8 %), *trans* β -cariofileno (5,0 – 8,5 %), *p*-cimeno (4,4 – 6,3 %), α -humuleno (3,0 – 5,7 %), γ -terpineno (2,5 – 4,6 %), α -felandreno (2,7 – 4,0 %), α -eudesmol (1,1 – 3,8 %) y δ -cadineno (1,8 – 3,0 %), estos ocho corresponden al 66 % de todos los compuestos presentes.

El 62,5 % del total de compuestos corresponden a monoterpenos, entre los cuales los monoterpenos oxigenados constituyen el grupo más abundante y un 31,2 % corresponde a sesquiterpenos.

Tabla 4. Composición química y cantidad relativa de metabolitos secundarios volátiles de *L. origanoides*, accesiones Patía, Cítrica y Típica. (Por la fertilización magnésica)

tr (min)	Identificación	ACCESIONES (Cantidad relativa %)								
		Patía			Cítrica			Típica		
		Tratamientos de Mg (mg L ⁻¹)								
		30	49	72	30	72	30	49	72	
8,98	3-Metil-3-butenol	<0,1	<0,1	0,1	ND	ND	ND	ND	ND	
11,04	3-Metil-3-butenal	<0,1	<0,1	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	
14,03	<i>trans</i> -2-Hexenal	<0,1	<0,1	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	
15,38	Acetato de 3-metilbutenilo	<0,1	<0,1	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	
17,39	α -Tujeno	1,0	1,0	1,0	0,4	0,3	0,6	0,2	0,4	
17,77	α -Pinoeno	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	0,3	0,5	
18,57	Canfeno	<0,1	<0,1	<0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	
19,07	Benzaldehído	<0,1	<0,1	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	
19,53	Sabineno	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,1	0,1	
19,69	1-Octen-3-ol	<0,1	<0,1	<0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	
19,81	β -pinoeno	0,1	0,1	0,1	0,1	<0,1	0,1	0,1	0,1	
20,21	β -mirceno	3,3	3,2	3,1	1,5	1,2	2,0	0,9	1,2	
20,77	Acetato de 3-hexenilo	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	
21,05	α -Felandreno	0,2	0,2	0,2	1,8	1,2	2,7	3,6	4,0	
21,12	δ -3-Careno	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	<0,1	0,1	
21,52	α -Terpineno	2,5	2,5	2,0	0,9	0,7	1,0	0,8	0,6	
21,89	ρ -Cimeno	8,7	8,5	8,1	5,6	4,6	6,3	4,4	4,7	
22,06	Limoneno	0,4	0,4	0,4	0,8	0,6	1,2	1,2	1,4	
22,17	β -Felandreno	0,6	0,6	0,4	0,9	0,6	1,5	1,3	1,5	
22,23	1,8-Cineol	<0,1	<0,1	<0,1	2,2	1,6	2,6	2,6	2,3	
22,61	<i>trans</i> - β -Ocimeno	0,2	0,3	0,2	0,2	0,1	0,7	0,2	0,1	
23,30	γ -terpineno	8,3	8,7	6,6	3,3	2,9	3,7	4,6	2,5	
23,77	<i>cis</i> -Hidrato de sabineno	0,5	0,5	0,6	0,3	0,3	0,3	0,1	0,2	
24,37	Terpinoleno	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
24,48	6,7-Epoximirceno	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	<0,1	0,1	
24,56	ρ -Cimeno	0,1	0,1	0,1	0,1	<0,1	0,1	<0,1	<0,1	
24,83	Linalool	0,3	0,5	1,0	0,2	0,2	0,3	0,2	0,4	
25,05	<i>trans</i> -Hidrato de sabineno	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
27,99	Borneol	ND	ND	ND	0,3	0,1	0,3	0,2	0,5	

28,17	Umbellulona	1,6	1,4	1,4	0,7	0,5	0,8	0,4	0,3
28,26	Terpinen-4-ol	0,3	0,3	0,2	0,5	0,2	0,5	0,6	0,5
28,68	Salicilato de metilo	0,2	<0,1	0,5	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,1
28,97	α -Terpineol	ND	ND	ND	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
29,95	Timol Metileter	1,2	1,3	0,8	1,5	1,3	1,4	0,6	0,3
32,28	Timol	60,3	60,5	60,4	50,9	57,9	47,8	33,6	30,1
32,70	Carvacrol	0,7	0,7	0,7	0,5	0,5	0,5	0,3	0,2
34,42	Acetato de Timilo	0,7	0,6	1,2	1,2	1,1	1,3	0,3	0,3
34,71	Eugenol	ND	ND	ND	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
35,82	α -Copaeno	ND	ND	ND	0,4	0,4	0,7	1,0	1,2
37,57	<i>trans</i> β -Cariofileno	3,4	3,5	4,7	5,2	5,3	5,0	8,5	7,9
38,74	α -Humuleno	2,0	2,0	2,8	3,2	3,2	3,0	5,3	5,7
38,88	γ -Muuroleno	ND	ND	ND	0,4	0,4	0,6	1,0	1,2
39,01	N.I. (M ⁺ 180)	1,0	0,9	0,8	1,7	1,6	0,6	0,2	0,4
39,82	Viridifloreno	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,5	0,6	0,6
39,95	α -Muuroleno	ND	ND	ND	0,5	0,5	0,8	1,3	1,7
40,13	β -Bisaboleno	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	1,0	1,1	0,8
40,47	γ -Cadineno	ND	ND	ND	0,3	0,3	0,7	0,8	1,1
40,55	δ -Cadineno	ND	ND	ND	1,1	1,0	1,8	2,7	3,0
40,71	<i>trans</i> -Calameneno	ND	ND	ND	0,6	0,5	0,6	1,1	1,3
40,73	<i>trans</i> - γ -Bisaboleno	ND	ND	ND	0,5	0,5	0,4	1,1	0,4
41,04	<i>cis</i> -Calameneno	ND	ND	ND	ND	ND	0,2	<0,1	<0,1
42,69	Óxido de Cariofileno	0,4	0,4	0,2	1,1	0,9	0,9	1,0	1,1
42,90	Guaiol	ND	ND	ND	0,2	0,2	0,2	0,6	0,6
43,45	Epóxido II Humuleno	ND	ND	ND	0,7	0,6	0,6	1,1	1,1
43,81	1-epi-Cubenol	ND	ND	ND	0,3	0,2	0,3	0,6	0,7
43,94	γ -Eudesmol	ND	ND	ND	0,6	0,5	0,4	1,2	1,4
44,03	N.I. (M ⁺ 220)	ND	ND	ND	0,4	0,3	0,3	0,7	0,8
44,17	epi- α -Cadinol	ND	ND	ND	0,5	0,3	0,4	1,2	1,2
44,22	tau-Muurolol	ND	ND	ND	0,5	0,3	0,4	1,1	1,2
44,55	N.I. (M ⁺ 222)	ND	ND	ND	0,9	0,7	0,6	2,1	0,6
44,69	α -Eudesmol	ND	ND	ND	1,7	1,4	1,1	3,8	2,1
44,72	Intermedeol	ND	ND	ND	0,2	0,2	0,1	0,4	4,1
44,99	N.I. (M ⁺ 222)	ND	ND	ND	3,2	2,6	1,9	4,1	6,6
	Monoterpenos	25,9	26,1	22,7	16,1	12,6	20,7	17,8	17,5
	Monoterpenos oxigenados	65,9	66,1	66,7	58,8	64,2	56,3	39,4	35,7

Sesquiterpenos	6,2	6,4	8,6	13,2	13,1	15,3	24,5	24,9
Sesquiterpenos oxigenados	0,4	0,4	0,2	5,8	4,6	4,4	11,0	13,5
Hidrocarburos	0,2	0,0	1,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3

DISCUSIÓN

Las tres accesiones requirieron diferentes cantidades de nutrientes para alcanzar el rendimiento mayor de aceite esencial, diferencia que está relacionada con las adaptaciones que sufren las plantas a la disponibilidad de nutrientes en cada uno de sus sitios de origen, como se trata de plantas de diferentes orígenes, cada una de ellas está adaptada de manera especial a una disponibilidad de nutrientes específica, lo que determinó que la mejor dosis de fertilización hallada para cada una de las accesiones en el cultivo fuera diferente.

Se encontró una relación entre el tratamiento 10 y la producción y rendimiento de los aceites esenciales, para Patía y Típica se alcanzan los valores más bajos, mientras que Cítrica alcanza su valor mayor, se corrobora que las necesidades nutricionales de las accesiones son diferentes y que deben ser manejados de diferente forma al momento de la fertilización. El aumento de N junto con la disminución de K en el tratamiento 10 mostró ser la influencia mayor en la producción y rendimiento de los aceites esenciales.

Al comparar los valores de rendimiento con otros estudios realizados, se encontró que estos están dentro del rango superior reportado para plantas de *L. origanoides* de diferentes orígenes de Colombia⁷, los cuales se ubican entre el 0,4 y el 4,4 %, pero que son muy superiores en comparación de rendimientos obtenidos en plantas de la ciudad de Oriximiná Brasil, donde se encontraron rendimientos del 1,0 %.³

La producción de los aceites esenciales depende de la cantidad de hojas que se produzcan en cada cosecha¹² y del rendimiento de los aceites esenciales. Al relacionar estos dos factores se encontró que la mayor producción de aceites la tiene en promedio Patía con 2,59 mL/planta, mientras que las otras dos accesiones alcanzan una producción significativa menor, 1,65 y 1,69 mL/planta para Cítrica y Típica al respecto (tabla 3). La accesión Patía presentó estadísticamente el rendimiento y producción de aceites esenciales más alto, con un 55 % por encima de Cítrica y de Típica, lo que la convierte en la accesión con mayor interés agroindustrial para la producción de aceites esenciales.

Influencia de la fertilización magnésica sobre la composición de los aceites esenciales

Parámetros climáticos (temperatura, precipitación), edáficos (propiedades fisicoquímicas del suelo) geográficos y las épocas de colecta del material vegetal, han sido estudiadas para explicar las diferencias en la composición química de los aceites esenciales en plantas de un mismo género y especie.¹³ Estudios con plantas de *L. origanoides* obtenidas de Belém, estado de Pará y con plantas del estado de Minas Gerais (Brasil), reportaron el timol como el componente mayoritario de los aceites esenciales y el carvacrol a nivel de trazas o ausente.^{4,5} En contraste, se encontraron en Oriximiná (Brasil) plantas con 38,6 % de carvacrol y 18,5 % de timol, sugiere esto la existencia de dos quimiotipos.³ Igual se encontraron dos quimiotipos de *L. origanoides* de Santander (Colombia), donde se registró que los

componentes mayoritarios fueron p-cimeno y 1,8-cineol para el quimiotipo I y timol para el quimiotipo II. Lo que indica la existencia de al menos tres quimiotipos de *L. origanoides*.⁶ Éste estudio muestra que cambios en la disponibilidad de Mg determinan diferencias en la composición y porcentaje de los metabolitos secundarios volátiles de las accesiones de *L. origanoides*.

Los resultados de la composición química de la accesión Patía están en concordancia parcial con los reportados en otros estudios en los cuales se encontró la misma composición principal en plantas de *L. origanoides* de los departamentos de Cauca, Nariño y Santander (Colombia).⁷ Sin embargo, el número de compuestos totales encontrados en esta accesión es mucho menor y además, posee un número reducido de sesquiterpenos en comparación con dichas plantas, lo que lo hace diferente.

En la composición de los aceites esenciales de Patía no existen cambios significativos que demuestren que el exceso o la deficiencia de Mg (tratamientos 8 y 9) produzcan variaciones en la concentración de alguno de los componentes individuales. No obstante, a medida que aumenta la concentración de este elemento, disminuye la concentración de monoterpenos y aumentan los sesquiterpenos y los hidrocarburos, aunque el timol, compuesto de mayor interés no cambió (tabla 4).

Los resultados de la composición química de la accesión Cítrica muestran concentraciones altas de timol, que concuerdan con reportes de plantas de los departamentos de Cauca, Nariño y Santander (Colombia)⁷ donde se encontró la misma composición principal. En comparación con Patía, aquí se encuentra un número mayor de sesquiterpenos 11 % adicional, lo que puede ser causante de las diferencias en las notas odoríferas de las dos accesiones. En Cítrica las variaciones de Mg (tratamientos 8 y 9) producen cambios en la concentración de algunos de los componentes principales como el timol. Así, cuando aumenta la concentración de Mg, disminuye el contenido de monoterpenos y aumentan los monoterpenos oxigenados en especial el timol, los sesquiterpenos permanecen constantes (tabla 4).

Las concentraciones encontradas de monoterpenos en la accesión Típica, en especial de timol, son las más bajas de las tres accesiones y concuerdan con los reportados en Brasil para plantas de la misma especie.⁵ Sin embargo los estudios preliminares, mostraron una composición mayor de timol en esta accesión del 80,7 %, lo que sugiere que estas plantas son susceptibles a cambios de ambiente, a las condiciones del invernadero y a todos los tratamientos.¹⁴ También se observa que en comparación con Patía y Cítrica se encuentra un número mayor de sesquiterpenos, lo que puede ser causante de las diferencias en las notas odoríferas entre las accesiones, mucho más que los cambios en las concentraciones de timol.

En Típica las variaciones de Mg (tratamientos 8 y 9) producen cambios en la concentración de algunos de los componentes como el timol. Así, cuando aumenta la concentración de Mg en los tratamientos, se disminuye el contenido de todos los monoterpenos y el de los sesquiterpenos tiende a aumentar (tabla 4).

Individual son muchos los compuestos que sufren cambios de concentración entre los diferentes tratamientos de fertilización con Mg, al observar los grupos se encuentra que cuando en los tratamientos aumenta la concentración disponible de Mg los monoterpenos disminuyen, sin embargo, los grupos que aumentan son diferentes en los tres casos. La importancia de conocer esto es saber en qué grupo se encuentra el compuesto de interés para mejorar su rendimiento dentro del

aceite esencial o disminuir los monoterpenos para mejorar alguna condición física en el aceite.

Uno de los precursores biológicos del timol, el γ -terpineno disminuye en todos los quimiotipos cuando se aumenta la concentración de Mg en los tratamientos, esto puede desencadenar en una mayor producción de timol al aumentar los niveles de Mg, sin embargo, él también puede ser precursor de otros compuestos.¹⁵

Los resultados permiten concluir que el nitrógeno es el elemento que más influye en el rendimiento y producción de los aceites esenciales, mientras que la disponibilidad de magnesio influye en la composición porcentual de los monoterpenos presentes en los aceites esenciales de las accesiones de *L. origanoides*, de manera que su disponibilidad en los suelos a largo plazo puede modificar su composición hasta diferenciarlo químicamente de otras accesiones.

Se evidenció que el aceite esencial de *L. origanoides* contiene grandes cantidades de timol en las tres accesiones estudiadas (48 – 68 %), lo que es una fuente potencial natural para uso industrial de este monoterpeno. Patía es la más prometedora agroindustrial, por presentar el mayor rendimiento, producción de aceites esenciales y el mayor porcentaje de timol en su composición química.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pascual ME, Slowing K, Carretero E, Sánchez D, Villar A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology. A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2001;76(3):201–4.
2. Méndez R, Serrano J, Chataing B, Jimenez D, Mora D, Rojas L, et al. Estudio Comparativo de la Actividad Biológica del Aceite Esencial *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March y el Aceite Esencial *Lippia origanoides* HBK Sobre Tres Especies de *Nocardia* sp. *Salud & Desarrollo Social*. 2007;2(1):49-52.
3. Oliveira DR, Leitão GG, Bizzo HR, Lopes D, Alviano DS, Alviano CS, et al. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. *Food chemistry*. 2007;101(1):236-40.
4. Morais AA, Mourão JC, Gottlieb OR, Silva ML, Marx MC, Maia JGS, et al. Óleos essenciais da amazônia contendo timol. *Acta Amazonica*. 1972;2(1):45–6.
5. Gallino MA. Una verbenacea essenziera ricca in timolo: *Lippia origanoides* H.B.K. *Essenze Derivati Agrumari*. 1987;57(4):628–9.
6. Stashenko EE, Martinez JR, Tunarosa F, Ruiz C. Estudio comparativo por GC-MS de metabolitos secundarios volátiles de dos quimiotipos de *Lippia origanoides* H.B.K., obtenidos por diferentes técnicas de extracción. *Scientia et technica* año XIII. 2007;33(05):325-8.
7. Ramírez LS, Isaza JH, Veloza LA, Stashenko EE, Marín D. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Lippia origanoides* de diferentes orígenes de Colombia. *Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences, at the Universidad del Zulia*. 2009;17 (4):313-21.

8. Stashenko EE, Jaramillo BE, Martínez JR. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*. 2004;1025(1):93-103.
9. Angioni A, Barra A, Coroneo V, Dessi S, Cabras P. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54(12):4364-70.
10. Poulose AJ, Croteau R. γ -Terpinene synthetase: A key enzyme in the biosynthesis of aromatic monoterpenes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1978;191(1):400-11.
11. Hoagland DR, Arnon DI. The culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular*. 1950;347(1):1-32.
12. Delgado J, Menjivar JC, Sánchez MS, Bonilla CR. Efecto de la fertilización en la producción de materia seca y extracción de nutrientes en tres accesiones de *Lippia origanoides* H.B.K. *Acta Agronómica*. 2012;61(4):331-8.
13. Zambrano EL, Buitrago LA, Durán LA, Sánchez MS, Bonilla CR. Efecto de la fertilización nitrogenada en el rendimiento y la composición de los aceites esenciales de especies y accesiones de *Lippia*. *Acta Agronómica*. 2013;62(2):129-35.
14. Akrou AA, Chemli R, Simmonds M, Kite G, Hammami M, Chreif I. Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Journal of Essential Oil Research*. 2003;15(5):333-6.
15. Poulose AJ, Croteau R. Biosynthesis of aromatic monoterpenes: Conversion of γ -terpinene to p-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1978;187(2):307-14.

Recibido: 15 de abril de 2014.
Aprobado: 14 de abril de 2015.

Johannes Delgado Ospina. Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, carrera 32 vía candelaria, Palmira, Valle del Cauca, Colombia.
Correo electrónico: jdelgadoo@unal.edu.co