

**COMPOSICIÓN Y RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE
Lippia origanoides (VERBENACEAE) EN EL CAÑÓN DEL
CHICAMOCHA, SANTANDER**

DALIA CAROLINA BLANCO MORENO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA
BUCARAMANGA
2006**

**COMPOSICIÓN Y RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE
Lippia origanoides (VERBENACEAE) EN EL CAÑÓN DEL
CHICAMOCHA, SANTANDER**

DALIA CAROLINA BLANCO MORENO

Trabajo de grado presentado para optar al título de Bióloga

**Director
NELSON RODRÍGUEZ LÓPEZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA
BUCARAMANGA
2006**

DEDICATORIA

*No puedo cambiar la dirección del viento,
Pero sí ajustar mis velas
Para llegar siempre a mi destino.
Jimmy Dean*

*Quiero dedicar este trabajo,
A Mis Padres, por su amor que me da fuerza y alegría...
A Mis Hermanas, por su apoyo y su cariño...
A Diana G. Blanco, por su excepcional amistad...
Y en especial a Dios, por llenarme de tanta gracia.*

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN	10
1. MÉTODOS	14
1.1 Área de estudio	14
1.2 Material vegetal y condiciones experimentales	14
1.3 Variables microclimáticas	15
1.4 Potencial hídrico del suelo	16
1.5 Potencial hídrico de la planta	16
1.6 Obtención del aceite esencial	16
1.7 Análisis cuantitativo del aceite esencial	17
1.8 Análisis físico-químico del suelo y análisis nutricional foliar	17
1.9 Análisis estadístico	18
2. RESULTADOS	19
2.1 Variables microclimáticas del área experimental	19
2.2 Status hídrico foliar y del suelo	19
2.3 Rendimiento y composición del aceite esencial	20
2.4 Análisis físico-químico del suelo y análisis nutricional foliar	20
3. DISCUSIÓN	22
4. AGRADECIMIENTOS	28
BIBLIOGRAFÍA	

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Precipitación media mensual del Cañón del Chicamocha de los últimos 20 años (1984-2004) registrados en la estación meteorológica del municipio de Cepitá. Fuente: Datos IDEAM	35

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Rendimiento de aceite esencial, variables microclimáticas y parámetros fisiológicos registrados en el sitio de muestreo. Época de Lluvia (EL) y Época de Sequía (ES). Letras iguales entre las columnas hacen referencia a que no se presentó diferencia significativa ($p < 0.05$). *Valores equivalentes al promedio diario \pm desviación estándar.	36
Tabla 2 Análisis de caracterización físico-química del sustrato.	37
Tabla 3 Constituyentes volátiles del aceite esencial de <i>Lippia origanoides</i> .	38
Tabla 4 Cantidad relativa (%) de los constituyentes volátiles mayoritarios del aceite esencial de <i>Lippia origanoides</i> . Época de Lluvia (EL) y Época de Sequía (ES). Letras iguales entre las columnas hacen referencia a que no se presentó diferencia significativa ($p < 0.05$).	39

RESUMEN

TÍTULO: COMPOSICIÓN Y RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Lippia origanoides* (VERBENACEAE) EN EL CAÑÓN DEL CHICAMOCHA, SANTANDER *

AUTOR: DALIA CAROLINA BLANCO-MORENO **

PALABRAS CLAVES: *Lippia origanoides*, aceite esencial, composición, rendimiento, Cañón del Chicamocha.

DESCRIPCIÓN:

El objetivo de este estudio fue caracterizar la composición y el rendimiento del aceite esencial de *Lippia origanoides* durante la época de lluvia y la época de sequía en el ambiente semiárido del Cañón del Chicamocha (Santander, Colombia), debido a que hasta el momento no existen reportes realizados en esta especie en Colombia acerca de cambios en el rendimiento y la composición de su aceite esencial ocasionados por factores ambientales. El aceite esencial de *L. origanoides*, fue obtenido mediante la técnica de hidrodestilación asistida por radiación de microondas (MWHd) y analizado por GC/MS en un cromatógrafo de gases de alta resolución con detector selectivo de masas. El análisis por GC/MS de los AE obtenidos a partir del material vegetal de *L. origanoides*, permitió la identificación de 18 compuestos para ambas épocas. Los compuestos carvacrol, timol, *p*-cimeno, γ -terpineno, β -mirceno, α -terpineno, trans- β -cariofileno, acetato de carvacrilo y acetato de timilo fueron identificados como los componentes mayoritarios en el aceite esencial de esta especie, independientemente de la época. El rendimiento en la producción de aceite esencial, observado para cada una de las épocas, indica que la temperatura y la precipitación, i.e. potencial hídrico del suelo y humedad relativa, principales factores que caracterizan los cambios estacionales, no ejercen un efecto predominante sobre la composición y el rendimiento del aceite esencial en *L. origanoides*.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Director, Nelson Rodríguez López.

ABSTRACT

TITTLE: COMPOSITION AND YIELD OF THE ESSENTIAL OIL OF *Lippia origanoides* (VERBENACEAE) IN THE CHICAMOCHA CANYON, SANTANDER *

AUTHOR: DALIA CAROLINA BLANCO-MORENO **

KEY WORDS: *Lippia origanoides*, essential oil, composition, yield, Chicamocha Canyon.

DESCRIPTION:

The objective of this study was to characterize the composition and yield of the essential oil of *Lippia origanoides* during the rainy and dry seasons in the semiarid environment of the Chicamocha Canyon (Santander, Colombia), because until the moment reports carried out in this species in Colombia about changes in the yield and the composition of its essential oil caused by environmental factors don't exist. The essential oil of *L. origanoides*, was obtained by hydrodistillation assisted by radiation of microwaves and analyzed by GC/MS in a gas chromatographer of high resolution with detecting selective of masses. The analysis for GC/MS of the EO obtained from the vegetable material of *L. origanoides*, allowed the identification of 18 compounds for both seasons. The compounds carvacrol, thymol, *p*-cymene, γ - terpinene, β -myrcene, α -terpinene, trans- β -caryophyllene, carvacrol acetate and thymol acetate were identified as the major components in the essential oil of this species, independently of the season. The yield in the production of essential oil, observed for each of the seasons, indicates that the temperature and the rainfall, i.e. soil water potential and relative humidity, main factors that characterize the seasonal changes, do not have a predominant effect on the composition and yield of essential oil in *L. origanoides*.

* Work of Degree

** Faculty of Sciences, Biology School, Nelson Rodríguez López, Director.

INTRODUCCIÓN

Los metabolitos secundarios cumplen diversas funciones ecológicas en las plantas. Estos compuestos actúan como atractores de polinizadores y animales dispersores de semillas, agentes de competición planta-planta (Gershenzon, 2002); y además, proveen mecanismos de protección contra patógenos y herbívoros (Pichersky y Gershenzon, 2002). Entre los metabolitos secundarios producidos por las plantas se encuentran los terpenoides o isoprenoides, a los cuales también se les ha atribuido una posible acción protectora contra condiciones ambientales adversas, ya que proveen mecanismos de termotolerancia (Sharkey y Singaas, 1995) y protección de las membranas vegetales contra las altas temperaturas (Loreto *et al.*, 1998; Singaas, 2000; Peñuelas y Llusà, 2002), las cuales coinciden con las condiciones de sequía en el verano.

Así, algunas plantas pueden producir compuestos denominados aceites esenciales (mezcla de monoterpenos volátiles y sesquiterpenos), los cuales dan un olor característico a su follaje (Gershenzon, 2002), además de proporcionarle una mayor tolerancia a la fluctuación de diversos factores abióticos (Sharkey y Singaas, 1995; Loreto *et al.*, 1998; Singaas, 2000; Peñuelas y Llusà, 2002).

Algunos autores señalan que factores ambientales como la luz, la temperatura y la humedad relativa, pueden influir de forma importante sobre el rendimiento y la composición del aceite esencial (Staudt y Bertin, 1998; Gershenzon *et al.*, 2000). Adicionalmente, el rendimiento de monoterpenos está influenciado por factores

como la estacionalidad (Peñuelas y Llusà, 1997) y la disponibilidad hídrica (Bertin y Staudt, 1996) y, ya que los metabolitos secundarios están formados de carbono fotosintético (Peñuelas y Llusà, 2002), la reducción de la fotosíntesis causada por el estrés hídrico puede reducir el rendimiento de monoterpenos (Delfine *et al.*, 2005).

Por otra parte, estos compuestos generan una gran cantidad de aerosoles orgánicos (Kavouras *et al.*, 1998), los cuales pueden tener una importante influencia sobre el clima por formar núcleos de condensación; como resultado de esto, podría esperarse un enfriamiento neto de la superficie de la tierra (Peñuelas y Llusà, 2003a).

Las emisiones de Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs) aumentan con el calentamiento climático que se presenta con el actual cambio global ambiental. Estudios sobre los impactos de las emisiones de los COVs se han concentrado en los cambios en el potencial redox atmosférico, debido a que estos influyen en el potencial de oxidación de la troposfera afectando la concentración del principal oxidante atmosférico, el radical hidroxilo (Peñuelas y Llusà, 2003b).

Lippia origanoides H.B.K., perteneciente a la familia Verbenaceae, es un arbusto aromático, con olor a orégano y/o artemisa, que puede alcanzar una altura de hasta 3.5 m, siendo muy ramificado y deciduo (Adamo, 2003). *L. origanoides* se distribuye en el Neotrópico, el Caribe, y al norte de sur América en Colombia, Venezuela y Brasil (Terblanché y Kornelius, 1996; Adamo, 2003). Esta especie

es de gran interés industrial y medicinal debido a su uso como condimento, a su aceite esencial y a las propiedades terapéuticas que presenta (Adamo, 2003).

En Colombia, *L. organoides* u Orégano de monte, se desarrolla en el ambiente xerofítico del Cañón del Chicamocha en Santander (Albesiano *et al.*, 2003), el cual se caracteriza por presentar una época seca muy marcada para los meses de diciembre y enero (IDEAM 2004), con poca ganancia de agua, en donde se registra una precipitación promedio mensual de 60 mm y una temperatura máxima y mínima de 35.7°C y 15.8°C, respectivamente (Albesiano *et al.*, 2003). También presenta suelos químicamente fértiles, textura fina y altos niveles de pedregosidad (Albesiano *et al.*, 2003).

Hasta el momento no existen reportes de estudios realizados en *L. organoides* (Colombia) acerca de cambios en el rendimiento y la composición del aceite esencial ocasionados por factores ambientales, tales como la estacionalidad de las lluvias, característica de su hábitat natural. Por esta razón, se hace importante conocer cuáles son los compuestos que esta especie aromática promisoriosa está produciendo y que posteriormente serán emitidos a la atmósfera, y cómo varían estos con la estacionalidad.

Con base en lo expuesto anteriormente, la hipótesis propuesta en este estudio planteó que en época de sequía con mayor temperatura y menor disponibilidad hídrica se presentaría un mayor rendimiento de aceite esencial. Por consiguiente, el objetivo de este trabajo fue caracterizar la composición y el rendimiento del

aceite esencial de *L. origanoides* durante la época de lluvia y la época de sequía en el ambiente semiárido del Cañón del Chicamocha (Santander, Colombia).

1. MÉTODOS

1.1 Área de estudio

El estudio fue llevado a cabo en el corregimiento de Pescadero, municipio de Piedecuesta, en la zona baja del Cañón del Río Chicamocha (Santander, Colombia). El área experimental se ubicó a 6° 48' 42.6'' latitud norte y 73° 00' 29.6'' longitud oeste a una altura de 500 m.s.n.m.

1.2 Material vegetal y condiciones experimentales

Las épocas para las salidas de campo fueron determinadas mediante el análisis de los registros de precipitación de los últimos 20 años (1984 – 2004) de la estación meteorológica del municipio de Cepitá, perteneciente a la red de estaciones climáticas del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia (IDEAM).

En el Cañón del Chicamocha pueden identificarse dos épocas de lluvia y dos épocas de sequía (Figura 1). La primer época de lluvia comprende los meses de abril y mayo, y la segunda comprende septiembre, octubre y noviembre, siendo octubre el mes de mayor precipitación (precipitación promedio = 112.5 mm). Por otra parte, la primer época de sequía comprende diciembre, enero, febrero y marzo, y la segunda comprende junio, julio y agosto, siendo diciembre el mes de mínima precipitación (precipitación promedio = 28.5 mm).

Con base en esto, las mediciones de los diferentes parámetros microclimáticos y la colecta del material vegetal fueron realizadas en los meses de Octubre (precipitación promedio = 95.4 mm) y Diciembre (precipitación promedio = 10.0 mm) durante dos días cada época.

En cada una de las salidas se realizaron colectas de material foliar de 4 plantas de *L. origanoides* escogidas al azar y posteriormente marcadas, las cuales se encontraban ubicadas en el área experimental y expuestas a la radiación solar en la parte superior del dosel; además, se tomaron muestras de suelo para la realización de los análisis correspondientes. Las muestras foliares empleadas para el análisis del aceite esencial fueron secadas a temperatura ambiente (Akrouit *et al.*, 2003); en tanto que las muestras empleadas para el análisis nutricional foliar fueron secadas a 80°C en una estufa de ventilación forzada.

El registro de las variables microclimáticas, el potencial hídrico de la planta y el potencial hídrico del suelo se realizó desde las 9:00 a.m. hasta las 4:00 p.m. en intervalos de dos horas.

1.3 Variables microclimáticas

La densidad de flujo fotónico (DFF), la temperatura del aire (T_a), la temperatura de la hoja (T_h) y el porcentaje de humedad relativa (HR) fueron registrados a través de un sensor de luz para radiación fotosintéticamente activa, un sensor de temperatura y un sensor de humedad relativa conectados a un porómetro de estado estable modelo LI - COR 1600 (LI - COR, Lincoln, NE, USA).

Cada medición fue realizada en tres hojas totalmente expandidas del estrato superior del dosel foliar de los cuatro arbustos escogidos.

1.4 Potencial hídrico del suelo (Ψ_w)

Las mediciones del potencial hídrico del suelo se llevaron a cabo mediante la instalación de dos tensiómetros (Soil Moisture, USA), a 20 cm de profundidad aproximadamente, los cuales se ubicaron a una distancia media entre las plantas evaluadas.

1.5 Potencial hídrico de la planta (Ψ_w)

El potencial hídrico de la planta se determinó mediante la técnica de la bomba de presión, con una cámara tipo Schollander PMS 200 (PMS Instruments Inc., Corvallis, OR) en tres ramas al azar (diámetro del tallo ≤ 5 mm) de los arbustos utilizados para la medición de las variables microclimáticas.

1.6 Obtención de aceite esencial (AE)

Extracción. El aceite esencial se obtuvo a partir de hojas secas de *L. origanoides* picadas en trozos de 1-2 cm, por el método de hidrodestilación asistida por radiación de microondas (MWHD). El material vegetal se sometió a extracción en un equipo de destilación tipo Clevenger con adaptación para calentamiento por radiación de microondas, a través de un horno de microondas convencional KENDO, modelo MO-124, con una potencia de salida de 800 vatios y frecuencia de radiación de 2.5 GHz. Se adicionó un volumen de agua de 100 mL. Al final

del proceso de extracción, se agregó sulfato de sodio al aceite extraído, para secar el agua residual.

Análisis de la muestra por GC-MS. El aceite esencial (50 µL) de las plantas muestreadas en cada una de las salidas de campo, se disolvió en diclorometano hasta un volumen final de 1 ml. Luego, 1 µL de cada extracto se inyectó en un cromatógrafo de gases de alta resolución (HRGC/MSD) modelo Agilent Technologies 6890 Plus con detector selectivo de masas (MSD, Agilent Technologies 5973) para su análisis cromatográfico. El gas de arrastre empleado fue helio (99.9995%, *AgaFano*, S.A.).

1.7 Análisis cuantitativo del aceite esencial

El rendimiento del aceite esencial para cada una de las épocas fue calculado dividiendo la cantidad de aceite obtenida de la muestra vegetal entre el peso de masa seca de la misma muestra.

1.8 Análisis físico-químico del suelo y análisis nutricional foliar

El análisis de caracterización físico-química del sustrato fue realizado mediante las siguientes técnicas: colorimetría de Walkley-Black $K_2Cr_2O_7-H_2SO_4$ (Jackson, 1976) para materia orgánica; método de Bray II HCl 0.1 N-NH₄F 0.03 N para fósforo disponible; extracción de boro con fosfato monocálcico y determinación por colorimetría; extracción de Ca, Mg, Na y K con acetato de amonio (Thomas, 1982) y determinación mediante espectrofotometría de absorción atómica; extracción de Fe, Mn, Cu y Zn con DPTA y determinación por espectrofotometría

de absorción atómica. El pH del suelo fue determinado después de dilución con agua destilada (1:1 v/v), y la textura se determinó por el método de Bouyoucos (Day, 1965).

El estado nutricional (NPK) de las plantas se evaluó mediante la realización de análisis de tejido foliar por medio de las técnicas de espectrofotometría de absorción atómica, colorimetría y el método de Kjeldahl para Potasio, Fósforo y Nitrógeno respectivamente.

1.9 Análisis estadístico

Los datos de potencial hídrico vegetal, potencial hídrico del suelo, temperatura del aire y de la hoja, radiación, humedad relativa y, composición y rendimiento de aceite esencial fueron analizados para cada época de forma independiente, mediante la prueba de Mann-Whitney (Zar, 1999).

2. RESULTADOS

2.1 Variables microclimáticas del área experimental

Los valores de las variables microclimáticas del área experimental y de las plantas se presentan en la Tabla 1. La temperatura foliar en las plantas y la temperatura del aire durante los periodos de medición en la época de lluvia no presentaron diferencias significativas comparadas con los valores registrados durante la época de sequía. Por otra parte, para la época de sequía se registraron valores bajos para DFF, no obstante, no hubo una diferencia significativa entre las dos épocas. La humedad relativa registrada en época de lluvia fue significativamente mayor que la encontrada para la época de sequía.

2.2 Status hídrico foliar y del suelo

Los valores del potencial hídrico foliar y del potencial hídrico del suelo se presentan en la Tabla 1. La disponibilidad de agua en el suelo, registrada durante la época de lluvia a través de la medición del Ψ_w , no presentó diferencias significativas en comparación con la registrada durante la época de sequía.

Entre tanto, el Ψ_w en las plantas registrado durante la época de lluvia fue significativamente mayor que el registrado durante la época de sequía. Además, independiente de la época de medición, los valores más bajos de Ψ_w se presentaron en horas del mediodía.

2.3 Rendimiento y composición del aceite esencial

Los valores del rendimiento del aceite esencial para cada una de las épocas se presentan en la Tabla 1. El rendimiento del aceite obtenido a partir de la biomasa seca de hojas no presentó diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las épocas de colecta.

El análisis por GC/MS de los AE obtenidos a partir del material vegetal de *L. origanoides*, permitió la identificación de 18 compuestos para ambas épocas (Tabla 3), de los cuales nueve fueron identificados como los componentes mayoritarios en el aceite esencial de esta planta (Tabla 4). La cantidad relativa de cada compuesto varió con la época, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas.

2.4 Análisis físico-químico del suelo y análisis nutricional foliar

El resultado del análisis de la caracterización físico-química del suelo del área experimental (Tabla 2), presentó un pH ligeramente alcalino ($\text{pH} = 7.4$) y un contenido de materia orgánica (MO) bajo (1.72%). Además, se encontró una baja concentración de nitrógeno (N) en el suelo ($\%N = 0.086$), mientras que la concentración de fósforo (P) fue alta y la concentración de potasio (K) se encontró en un nivel medio. La textura del suelo fue calificada como arenosa (80% arena).

El análisis del tejido foliar tanto para la época de lluvia como para la época de sequía presentó un bajo porcentaje de N foliar (1.26% y 1.54%, respectivamente). Para el caso del P disponible en las hojas, éste fue alto para ambas épocas (1.87%

para la época de lluvia y 1.7% para la época de sequía), mientras que el Potasio fue ligeramente bajo (1.43% para la época de lluvia y 1.10% para la época de sequía) (Kalra, 1998), sin embargo, estos nutrientes no presentaron diferencias significativas entre las épocas.

3. DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo indican que en época de lluvia fueron registrados los mayores valores de Ψ_w en las plantas, en tanto que para la época de sequía se encontraron valores más bajos para este parámetro. Resultados similares fueron encontrados en *Ipomoea carnea* Jacq., *Jatropha gossypifolia* L., *Alternanthera crucis* (Moq.) Bondingh y *Lycium nodosum* Miers. en estudios realizados en ecosistemas semiáridos de Venezuela (Tezara *et al.*, 1998; Tezara *et al.*, 2003); de igual forma, Nogués y Baker (2000) reportan efectos similares en *Olea europea* L., *Rosmarinus officinalis* L., y *Lavandula stoechas* L. en ecosistemas semiáridos del Mediterráneo.

La radiación incidente sobre las plantas y la temperatura del dosel de las mismas, registradas durante este trabajo, juegan un papel importante en el Ψ_w de las plantas. Esta incidencia puede conllevar a la planta a presentar determinados cambios en respuesta a un posible estrés hídrico, evidenciados mediante la reducción del status hídrico durante la época de sequía en relación al registrado durante la época de lluvia. Esto a pesar de que para la época de sequía se registraron menores valores de DFF debido a que durante los días de medición se presentó nubosidad, lo que disminuía la radiación incidente.

Entre tanto, algunos estudios reportan una gran variabilidad en la composición química del aceite esencial en el género *Lippia* (Terblanché y Kornelius, 1996;

Pascual *et al.*, 2001), en los que se encontró que limoneno, β -cariofileno, *p*-cimeno, camfor, linalol, α -pineno y timol fueron los componentes de mayor frecuencia (Pascual *et al.*, 2001). Algunos compuestos, como γ -terpineno y α -humuleno también han sido identificados en el aceite de algunas especies de *Lippia*, por ejemplo, *L. rugosa* de Camerún, *L. multiflora* de Benin y *L. myriocephala* de Costa Rica (Vila *et al.*, 2004; Ngassoum *et al.*, 2005; Avlessi *et al.*, 2005).

La composición química obtenida en este trabajo muestra algunas similitudes con los resultados obtenidos por Dos Santos *et al.* (2004) para *L. origanoides* en el nordeste brasileiro, quienes reportan a los monoterpenos carvacrol, timol, *p*-cimeno, γ -terpineno y metil timol como los principales componentes de su aceite; sin embargo, difiere en la presencia de metil timol entre los componentes mayoritarios, en lugar de trans- β -cariofileno, identificado en este estudio en el aceite de la misma especie.

Mientras tanto, un estudio adicional presentado por Terblanché y Kornelius (1996) en *L. origanoides*, reporta a γ -terpineno, *p*-cimeno, metil timol, acetato de timil y trazas de carvacrol para el aceite de la misma especie. Sin embargo, la presencia de trazas de carvacrol mencionada por estos autores, no concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo, en el cual el carvacrol fue el componente mayoritario.

La diferencia de la composición química de los AE entre los lugares de origen de crecimiento de las plantas, como en el caso de *L. origanoides*, ha sido explicada por la existencia de quimiotipos o por las diferencias en los parámetros climáticos (temperatura, precipitación, viento, números de horas luz), edáficos (propiedades físico-químicas del suelo), geográficos (altitud, latitud, entre otros), y por las épocas de colecta del material vegetal (Akrouit *et al.*, 2003).

Asimismo, los resultados de composición del AE de este trabajo difieren de los presentados por Delfine *et al.* (2005) y Misra y Srivastava (2000). Estos autores reportan cambios en las cantidades relativas de los compuestos encontrados en el aceite esencial de *Mentha spicata* L., *Rosmarinus officinalis* L. y *Mentha arvensis*, respectivamente, en tanto que para *L. origanoides* en este estudio no se presentaron diferencias significativas en la cantidad relativa de los compuestos entre cada una de las épocas.

Una de las posibles causas para la ausencia de diferencias significativas en el rendimiento del AE del material foliar colectado durante la época de lluvia en relación al colectado en época de sequía, podría atribuirse al estado fenológico de la planta, ya que durante la renovación foliar observada durante la época de sequía, hay una posible translocación de nitrógeno (N) hacia las hojas en formación, lo cual puede verse reflejado en el aumento del porcentaje de N foliar durante la época de sequía, aunque este aumento no fue significativo. Esto puede contribuir a que durante ésta época la síntesis de los compuestos que hacen parte

del AE de *L. origanoides* no sea alterada de forma significativa y así haya un rendimiento similar entre las épocas.

Igualmente, la temperatura también podría causar un aumento en el rendimiento de muchos terpenos (Loreto *et al.*, 1996), sin embargo, para este estudio, tanto la temperatura como la disponibilidad hídrica no ejercieron un claro efecto sobre el rendimiento del aceite esencial de *L. origanoides*, de igual forma, éste tampoco se vio afectado por la disminución de la humedad relativa para la época de sequía. Esto puede ser posible porque los valores registrados para estas variables durante los muestreos no llegan a ser críticos para la planta, estando adaptada a las condiciones de su ambiente, puesto que puede presentar mecanismos fisiológicos y alteraciones anatómicas que le pueden conferir cierto grado de tolerancia a las condiciones de crecimiento y la variación de los factores abióticos en su hábitat natural.

Los resultados del rendimiento de aceite esencial encontrados en este estudio no concuerdan con lo reportado por Baher *et al.* (2001). Estos autores señalan que hubo un aumento en la acumulación de aceite esencial durante un periodo de estrés hídrico severo en plantas de *Satureja hortensis* L. Al mismo tiempo, reportan un aumento de carvacrol bajo estrés hídrico moderado, mientras que, este compuesto presentó una disminución para la época de sequía en las plantas de *L. origanoides* utilizadas en este estudio.

De igual forma, los resultados presentados por Delfine *et al.* (2005), difieren con los encontrados en este trabajo. Estos autores reportaron que en plantas de *Mentha spicata* L. y *Rosmarinus officinalis* L. hubo un aumento del 50 y del 100%, respectivamente, en el contenido de monoterpenos cuando éstas fueron sometidas a estrés hídrico severo. Entre tanto, el rendimiento de AE registrado en este estudio fue similar al reportado por Misra y Srivastava (2000) en *Mentha arvensis* L., quienes obtuvieron una disminución en el rendimiento de AE bajo condiciones de estrés hídrico por deficiencia de agua.

De esta forma, la tendencia del rendimiento del AE a ser mayor en época de lluvia, en contraposición a lo planteado por varios autores como Loreto *et al.* (1996) y Baraldi *et al.* (2004), conlleva a rechazar la hipótesis propuesta inicialmente en este estudio, en la cual se plantea la presencia de un mayor rendimiento bajo condiciones de sequía.

Así, es factible que la regulación en el rendimiento de AE esté siendo ejercida en esta especie por factores diferentes a un aumento en el régimen de sequía, al menos en el rango aquí estudiado. Sin embargo, cabe anotar que posiblemente los valores registrados en este estudio para la temperatura, el Ψ_w del suelo y la HR no alcanzan el umbral en el cual la planta podría empezar a responder mediante cambios en la producción de AE.

Finalmente, se puede concluir que para el caso de *L. origanoides* en el Cañón del Chicamocha, la temperatura y la precipitación, i.e. potencial hídrico del suelo y

humedad relativa, principales factores que caracterizan los cambios estacionales, no ejercen un efecto predominante, pues no se encontró una relación directa entre estos factores y la composición y el rendimiento de AE.

Debido a la compleja relación existente entre parámetros ambientales, fisiológicos y metabólicos, se recomienda la realización de investigaciones bajo condiciones controladas en invernadero, en las que se sometan las plantas a rangos de estrés hídrico y de temperatura (fuera del rango experimentado en por las plantas en la población natural), que permitan estimar la influencia de éstos sobre la composición y el rendimiento de AE.

Igualmente, se hace necesaria la realización de estudios en los que se tengan en cuenta otras partes de la planta, como flores y tallos, involucradas en la producción de aceite esencial, puesto que permitirá una mejor estimación de la cantidad y la composición de los compuestos que se están produciendo.

4. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a COLCIENCIAS (CO-432), por su apoyo económico para la ejecución de este trabajo, a través del Centro Nacional de Investigaciones para la Agro-industrialización de Especies vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales- CENIVAM. A la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander; a la Dr. Elena Stashenko y el Laboratorio de Cromatografía, Centro de Investigación en Biomoléculas de la Universidad Industrial de Santander (CIBIMOL); al Laboratorio de Química de Suelos de la Secretaría de Agricultura del Departamento de Santander; y al Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia.

BIBLIOGRAFÍA

ADAMO G. Ficha técnica. Jardín Botánico de Mérida. 2003. Disponible en:

URL: [http://vereda.hacer.ula.ve/cgi-](http://vereda.hacer.ula.ve/cgi-win/be_alex.exe?Descriptor=Lippia+origanoides+Kunth&Nombrebd=vereda-patrimonio&TSalida=)

[win/be_alex.exe?Descriptor=Lippia+origanoides+Kunth&Nombrebd=vereda-patrimonio&TSalida=](http://vereda.hacer.ula.ve/cgi-win/be_alex.exe?Descriptor=Lippia+origanoides+Kunth&Nombrebd=vereda-patrimonio&TSalida=)

AKROUT AA, CHEMLI R, SIMMONDS M, KITE G, HAMMAMI M, CHREIF I. Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L. J. Essent. Oil Res. 2003; 15: 333-336.

ALBESIANO S, RANGEL-CH JO, CADENA A. La vegetación del Cañón del Río Chicamocha (Santander – Colombia). Caldasia 2003; 25: 73-99.

AVLESSI F, ALITONOU G, SOHOUNHIOUE DK, MENUT CH, BESSIERE JM. Aromatic plants of tropical West Africa. Part XIV. Chemical and biological investigation of *Lippia multiflora* Mold. Essential oil from Benin. J. Essent. Oil Res. 2005; 17: 405-407.

BAHER ZF, MIRZA M, GHORBANLI M, REZAI MB. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. Flavour and Fragrance Journal 2001; 17: 275-277.

BARALDI R, RAPPARINI F, OECHEL WC, HASTINGS SJ, BRYANT P, CHENG Y, *et al.* Monoterpene emission responses to elevated CO₂ in a Mediterranean-type ecosystem. *New Phytol.* 2004; 161: 1-21.

BERTIN N, STAUDT M. Effect of water stress on monoterpene emissions from young potted Holm oak (*Quercus ilex* L.) trees. 1996. En: Delfine S, Loreto F, Pinelli P, Tognetti R, Alvino A, editors. Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress. *Agric., Ecosyst. Environ.* 2005; 106: 243-252.

DAY PR. Particle fractionation and particle size analysis. En: Black CA, editors. *Methods of Soil Analysis. Part 1. Agronomy. ASA-SSSA. Madison-Wisconsin, USA; 1965. p. 45-78.*

DELFINO S, LORETO F, PINELLI P, TOGNETTI R, ALVINO A. Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress. *Agric., Ecosyst. Environ.* 2005; 106: 243-252.

DOS SANTOS FJB, ARIMATÉIA J, GRAÇAS AM, DE OLIVEIRA EH, DE LIMA SD, DE A.M. REIS F. Composition and biological activity of essential oils from *Lippia organoides* H.B.K. *J. Essent. Oil Res.* 2004; 16: 504-506.

GERSHENZON J, MCCONKEY ME, CROTEAU RB. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant Physiol.* 2000; 122:

205-213.

GERSHENZON J. Secondary metabolites and plant defense. En: Taiz L, Zeiger E, editors. Plant Physiology. Sunderland, MA: Editorial Sinauer Associates, Inc.; 2002. p. 283-308.

JACKSON ML. Análisis Químico del Suelo. 2 ed. Barcelona, España: Editorial Omega; 1976.

KALRA YP. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. Boca Raton, FL: Editorial CRC Press; 1998.

KAVOURAS IG, MIHALOPOULOS N, STEPHANOU EG. Formation of atmospheric particles from organic acids produced by forests. Nature 1998; 395: 683-686.

LORETO F, CICCIOLO P, CECINATO A, BRANCALEONI E, FRATTONI M, TRICOLI D. Influence of environmental factors and air composition on the emission of α -Pinene from *Quercus ilex* leaves. Plant Physiol. 1996; 110: 267-275.

LORETO F, FÖRSTER A, DÜRR M, CSIKY O, SEUFERT G. On the monoterpene emission under heat stress and on the increased thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes. Plant Cell

Environ. 1998; 21:101-107.

MISRA A, SRIVASTAVA NK. Influence of Water Stress on Japanese Mint.
Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants 2000; 7: 51-58.

NGASSOUM MB, MAPONGMETSEM PM, TATSADJEU L, JIROVETZ L,
BUCHBAUER G, SHAHABI M. Comparative aroma compound analysis of
different essential oils of *Lippia rugosa* from Cameroon using GC/FID, GC/MS
and olfactometry. J. Essent. Oil Res. 2005; 17: 492-495.

NOGUÉS S, BAKER NR. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean
plants grown under enhanced UV-B radiation. J. Exp. Bot. 2000; 51: 1309-1317.

PASCUAL ME, SLOWING K, CARRETERO E, SÁNCHEZ-MATA D,
VILLAR A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. J.
Ethnopharmacol. 2001; 76: 201-214.

PEÑUELAS J, LLUSIÀ J. Effects of carbon dioxide and seasonality on terpene
content and emission by *Rosmarinus officinalis* L. J. Chem. Ecol. 1997; 23: 979-
993.

PEÑUELAS J, LLUSIÀ J. Linking photorespiration, monoterpenes and
thermotolerance in *Quercus ilex*. New Phytol. 2002; 155: 227-237.

PEÑUELAS J, LLUSIÀ J. Emisiones biogénicas de COVs y cambio global ¿Se defienden las plantas contra el cambio climático?. Ecosistemas 2003a Año XII (1).

PEÑUELAS J, LLUSIÀ J. BVOCs: plant defense against climate warming? Opinion. Trends Plant Sci. 2003b; 8: 105-109.

PICHERSKY E, GERSHENZON J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. Current Opinion in Plant Biol. 2002; 5: 237-243.

SHARKEY TD, SINGSAAS EL. Why plants emit isoprene. Nature 1995; 374: 769.

SINGSAAS EL. Terpenes and the thermotolerance of photosynthesis. Commentary. New Phytol. 2000; 146: 1-4.

STAUDT M, BERTIN N. Light and temperature dependence of the emission of cyclic and acyclic monoterpenes from holm oak (*Quercus ilex* L.) leaves. Plant Cell Environ. 1998; 21: 385-395.

TERBLANCHÉ FC, KORNELIUS G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) – A literatura review. 1996. En: Dos Santos FJB, Arimatéia J, Graças AM, De Oliveira EH, De Lima SD, De A.M. Reis F, editors.

Composition and biological activity of essential oils from *Lippia organoides*
H.B.K. J. Essent. Oil Res. 2004; 16: 504-506.

TEZARA W, FERNÁNDEZ MD, DONOSO C, HERRERA A. Seasonal changes
in photosynthesis and stomatal conductance of five plant species from a semiarid
ecosystem. Photosynthetica 1998; 35: 399-410.

TEZARA W, MARTÍNEZ D, RENGIFO E, HERRERA A. Photosynthetic
responses of the tropical spiny shrub *Lycium nodosum* (Solanaceae) to drought,
soil salinity and saline spray. Ann. Bot. 2003; 92: 757-765.

THOMAS GW. Exchangeable cations. En: Page AL, editors. Methods of Soil
Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Monograph No. 9.
Madison, Wisconsin USA: American Society of Agronomy-Soil Science Society
of America (ASA-SSSA), Inc.; 1982. p. 159-165.

VILA R, IGLESIAS J, CAÑIGUERAL S, CICCIO JF. Composition of the
essential oil from leaves of *Lippia myriocephala* from Costa Rica. J. Essent. Oil
Res. 2004; 16: 177-179.

ZAR JH. Biostatistical Analysis. 4 ed. New Jersey: Editorial Prentice Hall; 1999.

Figura 1.

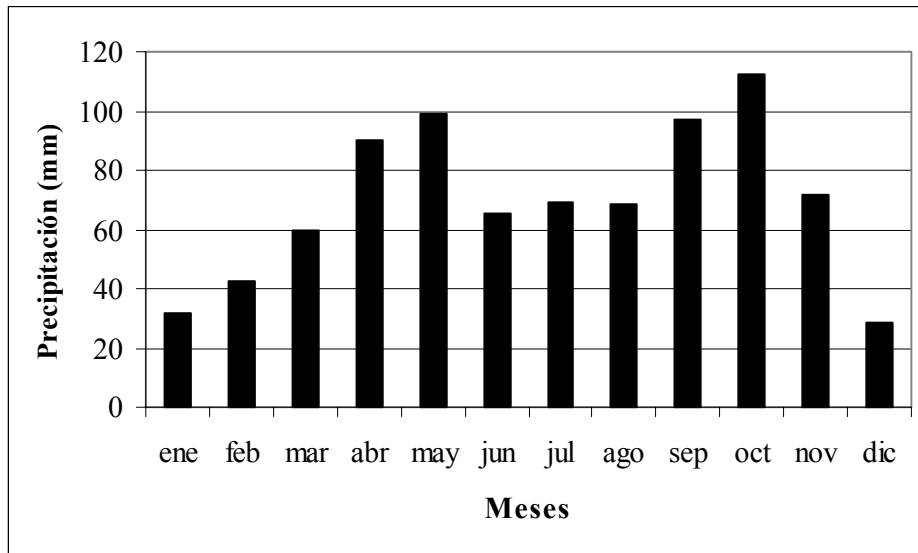


Tabla 1.

Variable	EL*	ES*
Temperatura del Aire (°C)	32,96 a ± 3,75	33,23 a ± 1,20
Temperatura de la Hoja (°C)	32,10 a ± 4,46	32,93 a ± 1,30
Radiación (μmol m ⁻¹ s ⁻¹)	670,90 a ± 587,10	519,96 a ± 362,42
Humedad Relativa (%)	34,00 a ± 9,42	25,72 b ± 6,66
Potencial Hídrico Vegetal (Bares)	-19,15 a ± 2,88	-35,26 b ± 3,59
Potencial Hídrico del Suelo (Bares)	-0,48 a ± 0,12	-0,56 a ± 0,03
Rendimiento del Aceite Esencial (%)	4,62 a ± 0,01	4,55 a ± 0,01

Tabla 2.

pH	C %	P ppm	Ca Meq/100 g de suelo	Mg Meq/100 g de suelo	Na Meq/100 g de suelo	K Meq/100 g de suelo	B ppm	Fe ppm	Mn ppm	Cu ppm	Zn ppm	MO %	N %
7.4	1.0	59	13.75	0.89	0.01	0.26	0.40	3.1	2.7	0.33	0.95	1.72	0.086

Tabla 3.

Componentes del Aceite Esencial de <i>Lippia origanoides</i>		
Monoterpenos No oxigenados	Monoterpenos Oxigenados	Sesquiterpenos No oxigenados
α -tuyeno	Terpinen-4-ol	trans- β -Cariofileno
α -pineno	Metil timil éter	α -Humuleno
β -Mirceno	Timol	
α -Terpineno	Carvacrol	
p-Cimeno	Acetato de timilo	
Limoneno	Acetato de carvacrilo	
cis- β -ocimeno	Terbutil-hidroxianisol	
γ -terpineno	Acetato de terbutil-hidroxianisol	

Tabla 4.

Componentes Mayoritarios del Aceite esencial	Cantidad Relativa (%)	
	EL	ES
β -Mirceno	2.94 a	2.95 a
α -Terpineno	2.71 a	2.99 a
p-Cimeno	15.3 a	13.78 a
γ -Terpineno	9.30 a	10.82 a
Timol	10.07 a	14.04 a
Carvacrol	47.09 a	44.64 a
Acetato de timilo	0.55 a	0.50 a
Acetato de carvacrilo	1.29 a	1.03 a
<i>trans</i> - β -Cariofileno	1.79 a	1.77 a