

PRIMEROS ENSAYOS PARA EL CULTIVO Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *CONOBEA SCOPARIOIDES* (CHAM. & SCHLTDL.) BENTH. PARA EL PACÍFICO COLOMBIANO

FIRST TRIALS OF CULTIVATING AND CHARACTERIZING THE ESSENTIAL OIL FROM *CONOBEA SCOPARIOIDES* (CHAM. & SCHLTDL.) BENTH. IN THE COLOMBIAN PACIFIC REGION

PRIMEIROS ENSAIOS PARA O CULTIVO E QUALIFICAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CONOBEA SCOPARIOIDES* (CHAM. & SCHLTDL.) BENTH. PARA O PACÍFICO COLOMBIANO

Robert Tulio González Mina

Director Programa de Agronomía de la Universidad del Pacífico - Buenaventura, Colombia
rtgonzal2000@yahoo.com

Ana Milena Hurtado Montaño

Estudiante Programa de Agronomía de la Universidad del Pacífico - Buenaventura, Colombia
milena.m.h@hotmail.com.

RESUMEN

ABSTRACT

Conobea scoparioides (Cham. & Schldtl.) Benth. es una planta silvestre de humedales de la que no hay antecedentes de su cultivo o domesticación. El presente trabajo intenta obtener resultados preliminares para su reproducción en condiciones experimentales de siembras simulando su entorno natural contrastada con siembras en materas. Como se ha reportado previamente interés por esta especie como fuente de aceites esenciales ricos en timol, sustancia valiosa de uso industrial y medicinal, se analiza la composición cromatográfica de los volátiles para una población local. Se enuncia un nuevo quimiotipo para el aceite esencial de *C. scoparioides* procedente de los humedales del Pacífico colombiano. Se presentan los resultados de los ensayos sobre la reproducción vegetativa y por semillas de la especie en cuestión, aunque los resultados reproductivos indican un limitado potencial agrícola para esta especie.

Conobea scoparioides (Cham. & Schldtl.) Benth is a wild plant from the tropical Pacific wetlands regarding which there are no previous research studies of its cultivation or domestication. This paper aims to produce preliminary findings for reproducing this plant under experimental growing conditions that simulate its natural environment, versus those of cultivation in pots. Since this species has previously raised some interest as a non-conventional source of essential oils rich in thymol (which is a valuable compound used for industrial and medical applications), this paper also presents an analysis of the chromatographic composition of volatile compounds for a given local population. It goes on to report a new chemotype for the essential oil from *C. scoparioides*, which originates in the wetlands in the Colombian Pacific region. Lastly, it presents the results of the vegetative and seed-based reproduction trials of this species. The reproduction trial results, however, indicate that this species has limited agricultural potential.

PALABRAS CLAVE

KEYWORDS

Conobea, germinación, semillas, fotoblastismo positivo, reproducción vegetativa, timol, crecimiento, aceite esencial, cromatografía.

Conobea, seed germination, positive photoblastism, asexual reproduction, thymol, growth, essential oil, chromatography.

Fecha de recepción: 01 - 10 - 2010

Fecha de aceptación: 17 - 12 - 2010

RESUMO

Conobea scoparioides (Cham. & Schltdl.) Benth. é uma planta silvestre das zonas úmidas e não existem antecedentes de seu cultivo ou domesticação. O presente trabalho procura obter resultados preliminares para sua reprodução em condições experimentais de plantios, simulando seu ambiente natural em contraste com o cultivo em vasos. Como foi anteriormente reportado o interesse por essa espécie como fonte de óleos essenciais ricos em timol, uma substância valiosa para uso industrial e medicinal, se analisou a composição cromatográfica das substâncias voláteis para uma população local. Se

expressa um novo quimiotipo para o óleo essencial de *C. scoparioides* procedente das zonas úmidas do Pacífico colombiano. São apresentados os resultados dos ensaios sobre a reprodução vegetativa e por sementes da espécie em questão, embora os resultados reprodutivos indiquem um limitado potencial agrícola para esta espécie.

PALAVRAS-CHAVE

Conobea, germinação, sementes, fotoblastismo positivo, reprodução vegetativa, timol, crescimento, óleo essencial, cromatografia.

Introducción

Conobea scoparioides (Cham. & Schltdl.) Benth, Scrophulariaceae, es conocida en Colombia como hierba de sapo y en el Brasil como "pataqueira"; es una planta de porte erecto que crece generalmente en zonas de gran humedad y encharcamiento del suelo, por lo que se la considera como helófito, con semillas diminutas, tal vez dispersada por sus pequeñas semillas adheridas al plumaje de las aves migratorias (Choi y otros, 2000). Tiene una amplia distribución desde el sur de México hasta Argentina, pero recibe usos medicinales reportados sólo en Colombia y Brasil.

Las comunidades rurales asentadas en la costa Pacífica colombiana poseen un amplio conocimiento tradicional para el uso medicinal de esta especie. La planta se emplea para la inducción del vómito en caso de intoxicación, inducción de aborto, como pediculicida en el control de liendres y piojos, para desinfectar heridas, como febrífugo, en el tratamiento de beri-beri, en el tratamiento de la malaria (Fonnegra R. y Jiménez S., 1999), y como tratamiento de hongos cutáneos en humanos y animales. Las comunidades del Pacífico colombiano la tienen en alto aprecio, pues se la usa como purgante, acaricida, antifúngica contra micosis cutánea y como antimalárica y leishmanicida.

Parte de las actividades farmacológicas, que se asocian con la planta, podrían deberse a los altos contenidos de timol y metil-timol, compuestos que se extraen de esta planta, y que se obtiene rutinariamente de varios géneros

de labiadas y verbenáceas. Estos dos compuestos resultan de gran utilidad en la agroindustria (Choi y otros, 2000), como saborizantes, antioxidantes, fungicidas y como acaricidas en la industria de la apicultura.

A pesar del potencial de *Conobea scoparioides* se conocen muy pocos estudios científicos y reducidos intentos para cultivarla en condiciones controladas. Pese a su amplia distribución y a su carácter aromático, ha sido poco estudiada desde el punto de vista fitoquímico y en su composición de aceite esencial.

El objetivo general fue evaluar dos métodos de propagación y determinar la composición de aceite esencial rico en timol de *Conobea scoparioides* y compararla con lo reportado en la literatura en el municipio de Buenaventura.

1. Generalidades de *Conobea scoparioides*

C. scoparioides es una planta anual de hasta un metro de altura aproximadamente, con hojas opuestas decusadas, lanceoladas, con borde regularmente serrado y base subsésil atenuada. La lámina presenta numerosas glándulas deprimidas que contienen aceites esenciales. El tallo es verde cuadrangular, quebradizo y arenquimatoso, con flores cigomorfas moradas, con líneas guías blancas. Los tallos producen abundantes raíces adventicias, evidentemente arenquimatosas, sin pelos absorbentes. Los frutos son capsulares esféricos de 2-3 mm de diámetro, tienen cáliz acrescente con 5

lacinias triangulares de 4 mm de longitud, y un pedúnculo filiforme de 1.5 a 2 cm de longitud, y contienen numerosas semillas minúsculas con placentación central. Todas las partes aéreas de la planta poseen un olor penetrante característico, que se hace más agradable durante el secado.

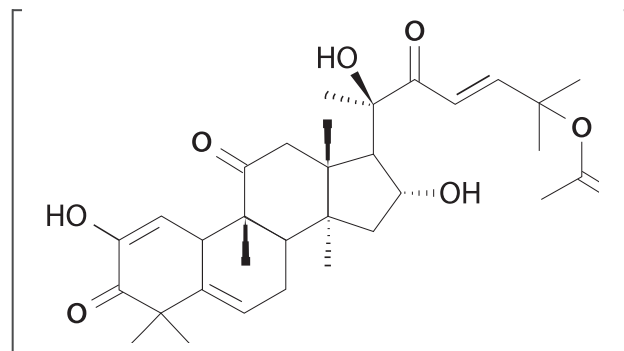
C. scoparioides crece en áreas anegadas con profundidades variables, en tierras bajas de los ríos y riachuelos, en suelos arenosos y en sitios encharcados, aunque hay reportes de su presencia en la zona andina en resguardos Paeces del Cauca.

Esta planta ha sido utilizada en el tratamiento de la malaria y para bajar la fiebre, entre otros. También se reporta un potencial contra protozoarios, como leishmanicida, tripanicida y citotóxica sobre la línea celular U-937 con los extractos polar (metanol) y apolar (diclorometano) de la planta total de *C. scoparioides*, con resultados positivos para el extracto apolar (Arteaga D., 2008), por lo que tendría un potencial anticancerígeno; en Brasil es utilizada en baños aromáticos y en el tratamiento del beri-beri (Choi, H-S *et al.* 2000) por lo que se deduce que debe contener cantidades significativas de tiamina (Vitamina B1). El sabor amargo de la planta dificulta su inclusión directa como saborizante y se debe a la presencia de sustancias triterpénicas denominadas cucurbitacinas. *C. scoparioides* contiene particularmente la Cucurbitacina E, que también se había detectado en otros miembros de la familia (Kaya *et Melzig*, 2008).

Los efectos anticancerígenos de la Cucurbitacina E, presentes en *C. scoparioides* fueron reportadas por Fuller *et al.* (1994).

Las cucurbitacinas reciben un creciente interés y patentes farmacológicas (Fuller *et al.*, 1994), por los poderosos efectos sobre células cancerosas (Jang *et al.*, 2008), en la interferencia de los procesos de adhesión celular y metastásicos (Sadzuka Y., Hatakeyama H., Sonobe T., 2009), y por su capacidad de inducir cambios fenotípicos en células sanguíneas. Duncan *et al.* (1996), reportan la efectividad de la Cucurbitacina E (Ver Figura 1), en el rompimiento del citoesqueleto de células de próstata tumorales.

Es posible que el alto aprecio medicinal de esta especie en el Pacífico colombiano se deba a la presencia de estas sustancias y a sus aceites esenciales.



▲ Figura 1. Estructura de la Cucurbitacina E.

Localmente la planta es utilizada para el tratamiento casero de hongos en los pies, piojo en las gallinas y en humanos, como purgante, abortiva, para baños, y para masajes, entre otros usos.

Además de su empleo en medicina alternativa, la hierba de sapo puede ser una especie atractiva económicamente ya que de ella se extraen aceites esenciales con sustancias para la agroindustria como el timol y el metil timol.

El timol (2-Isopropil-5-metil-fenol) es una sustancia cristalina incolora de olor fuerte, que está presente en aceites esenciales de algunas plantas, por lo tanto hace parte de los fenoles naturales. Un isómero de timol es el carvacrol. El timol pertenece al grupo de los terpenos, el cual se caracteriza por su poder desinfectante y fungicida; es usado por su sabor agradable en enjuagues bucales y pastas de dientes, además de la desinfección dermal y contra infecciones por hongos (Teuscher E. *et al.*, 2005).

En Colombia las únicas fuentes vegetales nativas, para obtención de timol son algunas especies de *Lippia* (*L. organoides*, *L. micromera* entre otras), y *C. scoparioides*. La industria brasilera candidatizó esta especie como la principal fuente potencial de timol para la Amazonia (Guilherme M. J., 2007), y por su abundancia en las zonas ribereñas (Choi y otros, 2000).

La cosecha de la especie a partir de poblaciones silvestres lleva a un nivel de sobreexplotación en algunas localidades, donde siempre se ha creído lleva la desaparición estacional de casi todas las plantas. Las poblaciones parecen recuperarse a partir de las semillas remanentes en el suelo, en los meses siguientes a su desaparición.

Pese a que ocasionalmente aparece cultivada en algunas huertas, lo que sugiere que podría serlo más extensivamente, este aspecto no ha sido abordado experimentalmente, por lo cual se pretende hacer investigaciones que exploren nuevas formas de aprovechamiento y cultivo.

El presente estudio busca comparar el método de propagación vegetativa y la reproducción por semillas en términos de comparación de variables de desarrollo y crecimiento de las plantas resultantes, y evaluar la composición del aceite esencial de *Conobea scoparioides* de una población del Pacífico colombiano, que podría diferir de la composición de los aceites reportados para la Amazonia brasilera, por ser poblaciones geográficamente disyuntas.

La planta *C. scoparioides* es para Colombia, la tercera especie (junto con *Lippia origanoides* y *Lippia micromera*) y primera de ecosistemas húmedos, con potencial para ser fuente industrializable de timol. El timol es un compuesto fenólico, requerido para aplicaciones industriales y medicinales, del que Colombia es importador neto. Una planta usualmente restringida al uso etnobotánico podría adquirir el estatus de cultivo comercial con impacto en la economía de pequeñas comunidades rurales del Pacífico colombiano, si se desarrolla el bagaje fitotécnico que permita su incorporación como cultivo convencional, del cual el presente estudio es la primera aproximación agronómica, y si los contenidos de este compuesto fenólico son suficientemente altos.

Este estudio busca comparar métodos de propagación vegetativa y por semillas de *Conobea scoparioides*, y evaluar la composición del aceite esencial y contenidos de timol de material vegetal procedente de una población del Pacífico colombiano, del que no existe ningún precedente previo.

2. Materiales y métodos

Para el logro de los objetivos, el presente estudio se dividió en cuatro fases: (a) la fase de campo para la recolección de semillas y esquejes de *C. scoparioides*; (b) la fase de siembra de los esquejes recolectados en campo en dos sistemas contrastantes: un humedal artificial que simula las condiciones naturales donde crece la especie y en materas; (c) una fase de semilleros donde se obtuvieron las plántulas adicionales para el

transplante en materas; (d) una fase de laboratorio donde se destilaron los aceites esenciales de material vegetal fresco y seco para luego remitirlos y realizar las pruebas de cromatografía de gases en el laboratorio de la Universidad Industrial de Santander (UIS).

2.1 REPRODUCCIÓN VEGETATIVA

Como material experimental se utilizaron esquejes y semillas de *C. scoparioides* provenientes de Santa Rosa de Saija (municipio de Timbiquí, Cauca).

Para simular las condiciones naturales de crecimiento de la especie se estableció una siembra de 90 esquejes en el campus de la Universidad del Pacífico, en un área encharcada de 1.44 m², durante siete meses y medio. Estos esquejes fueron tomados de plantas de *Conobea scoparioides* procedentes de Santa Rosa del Saija, municipio de Timbiquí, departamento del Cauca. Se seleccionó para este ensayo de reproducción vegetativa, secciones de tallos poco lignificados, y ramificaciones con raíces adventicias preexistentes. Se los almacenó en agua para evitar su deshidratación. Durante la fase vegetativa y de adaptación se hizo control manual de las arvenses. No se aplicó ningún tipo de enmienda ni ningún fertilizante al suelo.

La siembra se realizó en un área de suelos arcillosos con 5-15 cm de anegamiento constante, similar a las áreas donde crece naturalmente la especie.

2.2 REPRODUCCIÓN POR SEMILLA

SEXUAL

Las semillas se limpiaron y se las almacenó en frascos a temperatura ambiente, hasta el momento de la siembra.

Se tomaron lotes de cinco cajas de Petri y se cubrió el fondo de cada una de ellas con papel absorbente humedecido con agua destilada estéril, donde se depositaron las semillas de *C. scoparioides*.

Inicialmente se dejaron tres cajas de Petri con iluminación natural, y dos se conservaron en la oscuridad en las mismas condiciones de temperatura y tiempo.

Tras verificar reiteradamente la inhibición de la germinación de las semillas en condiciones de oscuridad se montó un ensayo que buscó definir si la ausencia de

germinación se debía a algún tipo de dormancia de las semillas mediada por los fitocromos.

Dos de las cinco cajas de Petri de otro lote de semillas, fueron mantenidas en oscuridad envueltas en papel aluminio y en una bolsa negra plástica, a una temperatura de 28°C. Tras ocho días de imbibición de las semillas, una de las cajas de Petri con semillas, fue irradiada con rayo láser (de tipo clase 3A de 650 ± 10 nanómetros rango de rojo y con una salida máxima de cinco micro vatios), por 80 minutos, divididos en sesiones de 10, 15, 25 y 30 minutos, respectivamente, por un período de diez días, para verificar si las semillas eran fotoblásticas positivas mediadas por los fitocromos, tratamiento que resultó negativo en la promoción de la germinación de las semillas irradiadas.

Se tomó otro lote de semillas limpias, se sembró un total de 160 semillas en dos materas, utilizando sustrato de suelo franco-limoso procedente del río Dagua. Las materas se irrigaron por inmersión capilar para no enterrar o remover las diminutas semillas. Las materas quedaron bajo techo en invernadero, con iluminación natural, al haber verificado la condición fotoblástica de las mismas.

Para las plantas procedentes de semillas, se establecieron 18 materas de forma directa cada una con dos kilogramos de suelo. Se estableció cada matera con dos plántulas, durante la fase vegetativa y de adaptación se hizo control manual de las arvenses y monitoreo de variables de crecimiento.

Para determinar el área foliar de las plantas de *C. scoparioides* se utilizó el modelo de regresión lineal, para el cual se relacionó a través de funciones matemáticas, las medidas de longitud y ancho de las hojas, con las mediciones reales del área proyectada de las mismas hojas sobre papel milimetrado, para 90 áreas foliares reales de hojas seleccionadas al azar. A partir de los cálculos del producto de longitud y ancho de las hojas, graficados como función del área foliar real de las hojas fotocopiadas sin amplificación sobre folios de papel milimetrado, se optó por la relación matemática que explicara mejor la relación a través de su R^2 más alto, la cual se usó para estimar las áreas foliares de las plantas experimentales a través de la medición de la longitud y ancho de las hojas de cada planta; esta función matemática se usó para la medición del área foliar no destructiva de las plantas experimentales.

Las plántulas se transplantaron a los 60 días en 18 nuevas materas. Durante este tiempo se mantuvo a las plántulas irrigadas todos los días durante el primer mes; luego cada dos días. Sobre estos materiales se monitoreó el crecimiento y desarrolló el registro de los datos de las variables: altura, número de hojas y de área foliar.

La no coincidencia de las semillas obtenidas por semillas y las obtenidas con esquejes (tanto en tiempo como en tamaño) dificultó la comparación en paralelo del crecimiento y desarrollo de los dos tratamientos experimentales debido a la diferencias de escala de más de un orden de magnitud.

2.3 OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *C. SCOPARIOIDES*.

Para la obtención del aceite esencial se usó destilación sencilla por arrastre de vapor (Cerpa CH. M Guillermo, 2007). Se separó el tallo de las hojas de *C. scoparioides* secas y frescas y luego se procedió a pesar la muestra. Finalmente, se introdujo la muestra al destilador tipo Clavenger de arrastre por vapor, por espacio de 4 horas, con el objeto de extraer el aceite esencial.

Se registró el rendimiento de aceite esencial en términos de peso fresco, para las muestras obtenidas de material fresco y en relación con el peso seco en los materiales secos.

Las muestras de aceites esenciales destilados en la Universidad del Pacífico fueron remitidas para su análisis al centro Cenivam, en la Universidad Industrial de Santander (UIS) donde se las procesó para el análisis cromatográfico.

El análisis cromatográfico de los extractos obtenidos se realizó en un cromatógrafo de gases de Agilent Technologies 6890 plus con detector selectivo de masas (MSD, Agilent Technologies 5973), empleando dos columnas capilares de fases estacionaria apolar db-5ms de 5%-fenil-poli (metilsiloxano) de 60 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 μ L df, y polar DB-WAX de poli (etilenglicol) de 60 m x 0.25 mm, D.I. x 0.25 μ m, df. Un volumen (50 μ L) de los aceites esenciales de *C. scoparioides* se disolvió con diclorometano (1mL), una alícuota (1 μ L) de esta solución fue inyectada al cromatógrafo de gases.

El reconocimiento de los metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales (*C. scoparioides*), se llevó a cabo empleando dos criterios, a saber:

- Cromatográfico, al comparar los índices de retención de Kovàts, calculados con base en los tiempos de retención de una serie de hidrocarburos lineales C10-C25 con los reportados en la literatura.
- Espectroscópico, por comparación de los espectros de masas obtenidos experimentalmente, con los almacenados en bases de datos Adams 2005, NIST02 y Willey7n constitutivas del cromatógrafo.

3. Resultados y discusión

En los ensayos de germinación de semillas sexuales de *Conobea scoparioides* se comprobó que sólo respondieron las semilla que quedaron expuestas a la luz; lo cual significa que sus semillas son fotoblásticas o que germinan en presencia de luz de acuerdo con Smith (1973) lo que se denomina fotoblastismo positivo.

Las semillas no responden a iluminación con láser de luz roja monocromática de 650 ± 10 nanómetros (rojo lejano), por lo que se puede entender que la germinación en la especie no es exclusivamente dependiente de los fitocromos, y que se requiere de otros estímulos en términos de longitudes de onda adicionales para que se desencadene la germinación (Vázquez-Yáñez, C. & Orozco-Segovia, 1990.)

Ninguna de las semillas embebidas en la oscuridad, e irradiadas en las sesiones con luz roja logró germinar.

El porcentaje de germinación que se obtuvo en el ensayo de semillas con iluminación natural fue del 51% (promedio en las tres unidades experimentales de 100 semillas) (ver Tabla 1), con diferencias significativas en las otras dos pruebas (oscuridad con y sin irradiación láser) ya que estas no germinaron en condiciones de imbibición e irradiación con láser durante diez días a una temperatura de 28°C.

Las plántulas germinadas alcanzan tamaños de 0.5 mm, lo que las hace de difícil manejo y transplante para desarrollos agronómicos.

Por otra parte, la reproducción vegetativa presenta brotes que en una semana alcanzan entre 1 - 4 cm de

Cajas Petri con iluminación natural (Réplicas)	Número de semillas por cajas de Petri	Germinadas	% de germinación
N.1	100	60	60
N.2	100	51	51
N.3	100	41	41

▲ Tabla 1. Porcentaje de germinación en cajas de Petri de semillas de *C. scoparioides* bajo condiciones de iluminación natural.

longitud, en una escala un orden de magnitud, mayores que las plántulas obtenidas por semillas.

El porcentaje de arraigo o de adaptación obtenido por los esquejes fue del 37% con que se culminó el ensayo, con un promedio de 6 hijuelos por plantas.

En plantas obtenidas por esquejes y por semillas, se encontró durante el desarrollo reproductivo de la especie, dos fases de floración diferenciadas. Un proceso de floración axilar a las hojas, en donde se desarrollan pocas flores axilares en los nudos basales. En las semanas siguientes, el proceso de floración se extiende a las partes altas de la planta, con lo que se interrumpe definitivamente su crecimiento en altura, pues los meristemas vegetativos se transforman en su totalidad en meristemas florales.

Las plantas tomaron entre 131 y 147 días para entrar al proceso de floración axilar, y de 187 a 201 días para la floración terminal. La diferencia entre ellas radica en que la floración axilar presenta inflorescencias cortas, gran número de follaje, escasa ramificación, y las flores son esporádicas, mientras que en la floración terminal se presenta una mayor ramificación, el follaje disminuye y se sustituye por brácteas foliosas, los tallos son más largos y las flores son continuas hasta cubrir totalmente la inflorescencia. A partir de ese período se presenta la fructificación y los procesos senescentes de las ramas más viejas concomitante con la obliteración de los tejidos de aerénquima del tallo.

Guillermo Maia (2007) reportó para *C. scoparioides* en el Amazonas brasileiro, tallas de un metro de altura, que son compatibles con las fluctuaciones de la inundación por desborde de dicha cuenca; de acuerdo con los resultados obtenidos de las plantas sembradas en campo dándoles las mismas condiciones naturales se alcanzó un promedio de 38.4 cm aproximadamente, mientras que

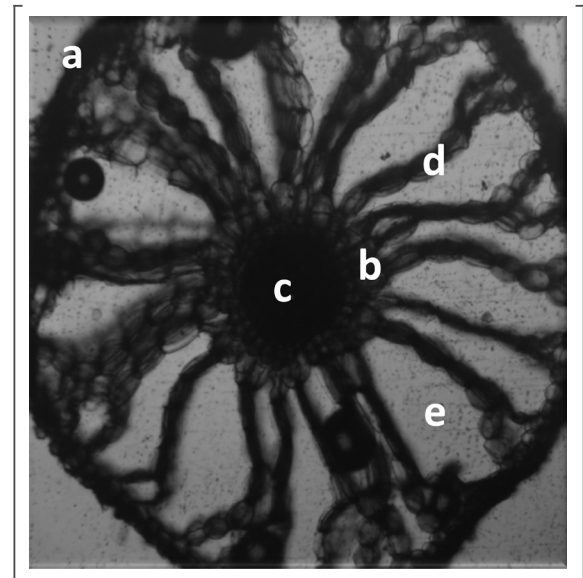
en matas las plantas sobrevivieron hasta un promedio de 7.2 cm, y las limitaciones impuestas por las raíces carentes de pelos absorbentes se hacen críticas.

Los estudios anatómicos de tallos, hojas y raíces, muestran que la planta está constitutivamente adaptada para crecer en espacios anegados. Tanto las raíces, hojas y tallos muestran una abundante proporción de espacios intercelulares, para favorecer la difusión de oxígeno desde las hojas hacia las raíces a través del tallo.

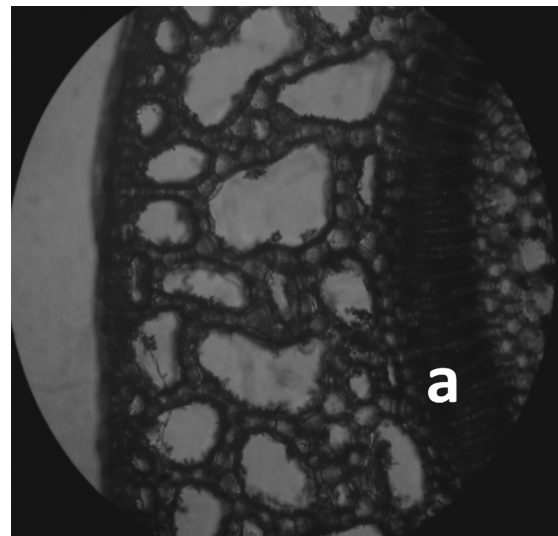
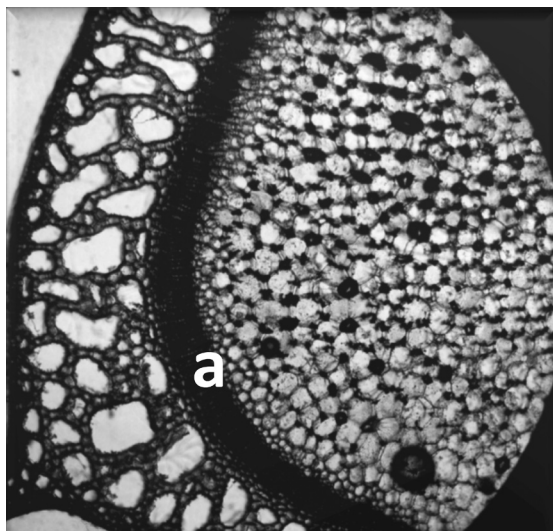
Las características morfológicas de tallos y raíces de *C. scoparioides* (Figuras 2 y 3) muestran que la especie está perfectamente adaptada anatómicamente para crecer en condiciones de anegamiento poco plásticas, que la llevan a tener limitaciones para crecer en suelos más secos por la ausencia de pelos radicales.

La organización anatómica del tallo de *C. scoparioides* evidencia que hay continuidad cortical de los tejidos aerenquimáticos presentes en la raíz, hasta las zonas distales de los tallos. Presenta inicialmente un débil desarrollo del cilindro vascular. Cada crecimiento en grosor debido al crecimiento vascular oblitera o aplasta los tejidos aerenquimatosos corticales, con la subsiguiente pérdida de la capacidad de conducción e intercambio de gases entre tallos y raíces, lo que explica la súbita muerte de las plantas maduras con lo que sobreviene una senescencia funcional de la planta y su posterior muerte.

Estas razones funcionales hacen que la planta se comporte como una planta anual, que muere tras la fructificación, aunque las condiciones exteriores continúen siendo favorables para su crecimiento.



▲ Figura 2. Corte transversal de la raíz de *C. scoparioides*: (a) epidermis (sin pelos absorbentes), (b) endodermis, (c) Cilindro vascular, (d) células parenquimatosas en radio, (e) espacios aéreos. Nótese lo atípico de la anatomía, que resulta irreversiblemente adaptada para crecer en suelos anegados.

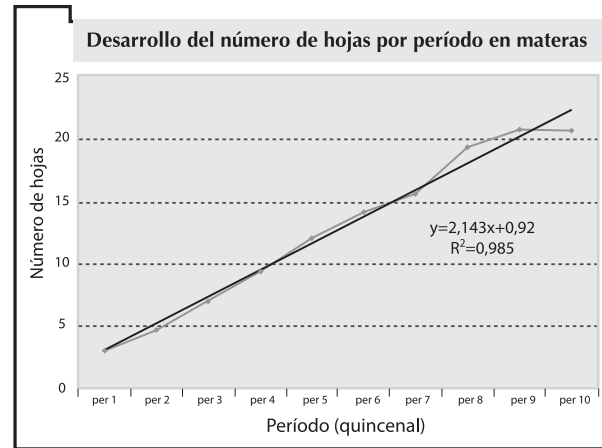


▲ Figura 3. Corte transversal de tallo de *C. scoparioides*. Nótese que el crecimiento del xilema (a) inevitablemente conduce a la obliteración o aplastamiento de los espacios aerenquimatosos, con lo cual sobrevienen los periodos de senescencia y muerte de la planta, lo que hace a la planta anual.

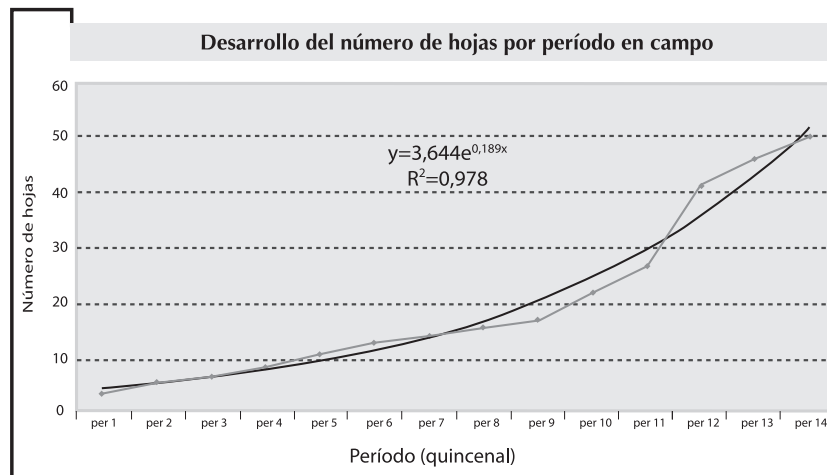
Esa misma organización indica que es posible obtener rebrotes vegetativos obtenidos de esquejes de ramas y tallos, como los usados en los experimentos de reproducción.

Cuando se analiza el modo como crecen las plantas obtenidas por semillas en materas y por esquejes se observa rápidamente que las tasas de crecimiento de unas y otras son radicalmente diferentes.

Las plantas de *C. scoparioides* crecen mejor en campo (Figura 4), pero en materas (Figura 5), se obtiene una supervivencia limitada y las plantas no alcanzan a entrar en floración, pues mueren pronto.



▲ Figura 4. Función lineal del número de hojas de *C. scoparioides* en el tiempo.

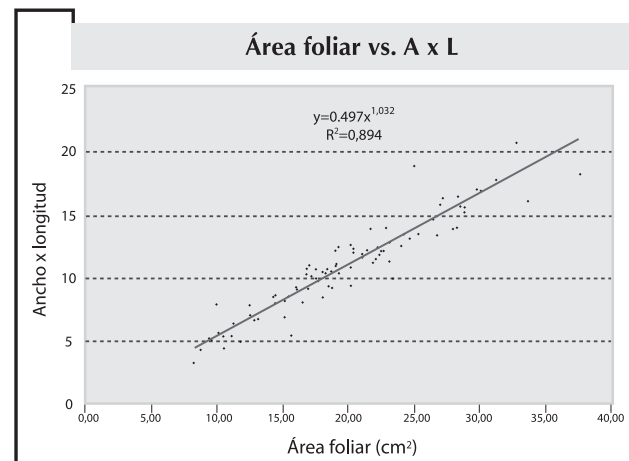


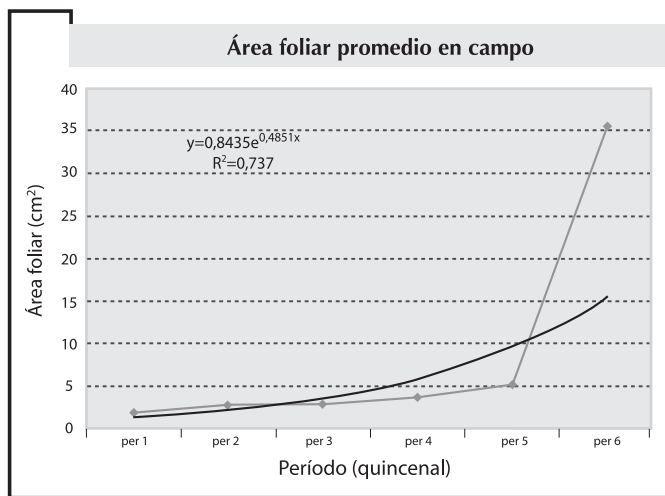
▲ Figura 5. Modelo de regresión del número de hojas de *C. scoparioides* como función del tiempo.

El área foliar se registró usando el modelo de regresión indicado en la Figura 6. El área foliar promedio acumulada producida por los dos ensayos evaluados se indica en las Figuras 7 y 8. El mayor promedio se alcanzó en las plantas sembradas en campo.

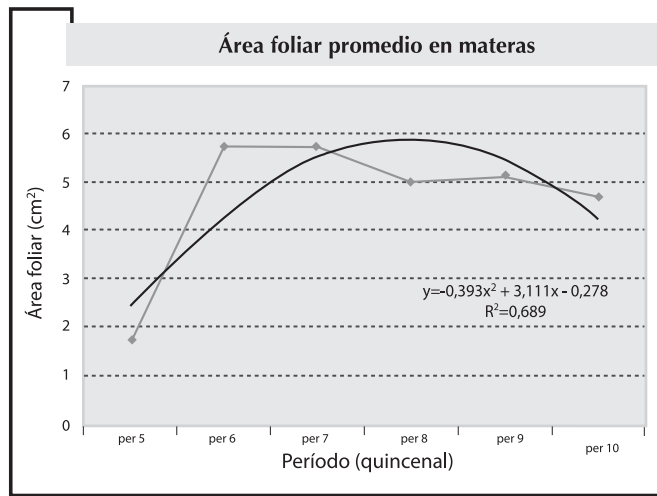
Las plantas sembradas en materia mostraron inicialmente un mejor desarrollo que las plantas experimentales en campo, pero en el transcurso del ensayo, las primeras empiezan a perder follaje, mientras que las de campo lo mantienen, lo que refuerza las evidencias de que las raíces no se desarrollan bien en las siembras en materia y

Figura 6. Modelo de regresión utilizado para calcular el área foliar de *C. scoparioides*





▲ Figura 7. Modelo de regresión de área foliar de *C. scoparioides* vs. Tiempo transcurrido.



▲ Figura 8. Incremento en el área foliar de *C. scoparioides* a través del tiempo. Nótese el gradual decrecimiento que antecede a la muerte de las plantas.

no pueden garantizar un buen crecimiento de las plantas. Mientras las plantas sembradas en campo (en condiciones similares a las naturales), adoptan un modelo de crecimiento exponencial del área foliar con respecto del tiempo tras la siembra que explica el 73% de la correlación matemática, las plantas en materas crecen con un modelo cuadrático que explica el 68% de los datos de medición de área foliar acumulada como función del tiempo tras la siembra. (Figuras 8 y 9, respectivamente). Las plantas sembradas en materas finalmente mueren antes de haber alcanzado la fase reproductiva.

LOS ACEITES ESENCIALES DE *Conobea scoparioides*.

Los cálculos de rendimiento de aceite esencial de *C. scoparioides* procedente de Santa Rosa del Saija, alcanzó un 0.36912 por ciento en plantas frescas, y 0.14935 por ciento en plantas secas, que resulta relativamente modesto comparado con lo reportado para otras fuentes de timol donde se alcanzan rendimientos cercanos al 3% a partir de material seco.

A partir de las muestras de aceite esencial se logró identificar los diferentes compuestos que constituyen los aceites esenciales obtenidos por destilación con arrastre por vapor de las hojas de *C. scoparioides*. Se destilaron

muestras frescas y secas de la planta, toda vez que se ha notado que las plantas frescas tienen un fuerte olor que puede ser desagradable, pero durante el secado las hojas adquieren un aroma más suave y agradable, que suele correlacionarse con el desarrollo de compuestos oxigenados.

Los análisis de las muestras de aceites esenciales remitidos a la UIS, indicados en la Tabla 2, presentan los compuestos reconocidos en los mismos, sus índices de retención de Kovats en las columnas cromatográficas DB-5 y DB-WAX y las cantidades relativas (%) de los componentes mayoritarios presentes en cada extracto. El aceite esencial de *C. scoparioides* de Santa Rosa de Saija, está constituido por 41 compuestos, donde inesperadamente el α -Felandreno resultó ser mayoritario, y varios compuestos oxigenados indican el potencial perfumista del mismo. Es posible que dicho aceite esencial tenga igualmente potencial aromatizante de bebidas alcohólicas y antioxidante de productos alimentarios y algún poder desinfectante que aún no se evalúan.

Al comparar los análisis de aceites esenciales de *C. scoparioides* estudiados por Guilherme Maia (2007) en Brasil donde se indica que los componentes mayoritarios son timol en un 26.4% - 37% y el metil timol en 47.7% - 44.7%, y que los reportes de Morais *et al.* en el mismo país (1972), indican como componentes mayoritarios el p- cimeno, α -terpineno con un 22.4% y el timol con un 20.6%.

Nº Pico ^a	Compuesto	I _K ^b		Cantidad relativa %
		DB-5	BD-WAX	
1	α-Tujeno	930	1018	0,4
2	α-Pineno	939	1013	1,7
6	α-Felandreno	1013	1165	38,8
9	Hidrocarburo monoterpénico, C ₁₀ H ₁₆	1029	1227	0,9
10	p-Cimeno	1032	1255	10,2
11	Limoneno	1036	1186	1,5
12	β-Felandreno	1038	1193	1,1
13	cis-β-Ocimeno	1043	1231	0,8
14	trans-β-Ocimeno	1053	1252	5,1
15	γ-Terpineno	1060	1243	2,3
16	Hidrocarburo monoterpénico, C ₁₀ H ₁₆	1064	1353	0,3
21	p-Cimen-8-ol	1191	1808	0,3
22	trans-Sabinol	1210	1774	0,4
23	Timol	1293	2132	19,0
25	6-Hidroxicarvotanacetona	1319	1836	0,4
27	Acetato de tímilo	1348	1815	0,4
29	trans-β-Cariofileno	1435	1595	7,1
30	trans-α -Bergamoteno	1441	1578	0,5
31	α-Humuleno	1470	1665	0,4
32	trans-trans-α-Farneseno	1491	1706	2,5
33	trans-Nerolidol	1564	2005	0,5
34	Óxido de cariofileno	1598	1978	0,7
37	Compuesto, M ⁺ m/z 300	1982	2149	0,9
40	Compuesto, M ⁺ m/z 302	2081	-	0,8
41	Compuesto, M ⁺ m/z 282	2171	-	0,8

a Número de pico en la Figura 4. b Índices de Kovats determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX. M⁺• Ión molecular.

▲ Tabla 2. Cantidades relativas (%) e identificación de los compuestos presentes en el aceite esencial obtenido de hojas frescas (Nº 1) de *Conobea scoparioides*.

Los análisis del aceite de *C. scoparioides* de Santa Rosa del Saija muestran que este se compone principalmente de α-felandreno con 38.8% y 41.3%, seguido por timol con 19.0% y 18.1% del total del aceite obtenido de hojas frescas. Para el aceite obtenido a partir de hojas secas de *C. scoparioides* predomina el α-felandreno con

27.4%, luego el timol con 21.5% (datos no mostrados). El descenso del rendimiento de extracción es coherente con la posibilidad de que algunos compuestos se volatilicen durante el secado, dada la delicada estructura de las epidermis foliares de esta planta y la oxidación catalítica de algunos componentes.

C. scoparioides de Santa Rosa del Saija contiene compuestos diferentes a los encontrados en el aceite esencial analizado para Brasil, con los que comparten sólo cuatro compuestos volátiles en común, que son: timol, alfa pineno, el p-cimeno, y el limoneno. Los demás compuestos son nuevos o no reportados anteriormente para el aceite esencial de la especie.

Estos resultados definen concluyentemente que la composición del aceite esencial de la población estudiada, difiere de las poblaciones amazónicas, sin que se pueda explicar concluyentemente las causales de las diferencias, que sólo hasta la fecha se pueden atribuir al aislamiento genético de las poblaciones comparadas, a las que se les debe dar la denominación de quimiotipos diferenciados.

4. Conclusiones

- Se recomienda que esta planta se reproduzca por esquejes en condiciones de suelo anegado, ya que por semillas en materas las plántulas tienen un lento de desarrollo, son muy delgadas y pequeñas. El crecimiento de biomasa expresado en aumento del área foliar indica que el crecimiento de la planta es bajo en tales condiciones, lo que limita su cultivo en condiciones agrícolas convencionales debido a la ausencia de pelos absorbentes en las raíces.
- Los análisis del aceite esencial de *Conobea scoparioides* procedente de Santa Rosa del Saija difieren de cualquier reporte disponible en la literatura. Se debe decir que los materiales vegetales estudiados constituyen un nuevo quimiotipo de esta zona del Pacífico colombiano, a pesar de ser una especie cosmopolita de los humedales de América.
- El rendimiento obtenido de este quimiotipo de es relativamente modesto comparado con otros reportes para la especie y otras fuentes de timol.
- Las particularidades anatómicas de los tallos de esta especie limitan su implementación en cultivo, ya que el crecimiento del xilema secundario, limita los tejidos arerénquimatosos de los que depende la propia planta para crecer en ambientes inundados. Las plantas crecidas en matera se desarrollan mal por lo que se limita su cultivo en condiciones agrícolas convencionales.

Agradecimientos

A la doctora Elena Stashenko, de la Universidad Industrial de Santander (UIS) y su equipo de trabajo en Cenivam, por los análisis que realizó gratuitamente para el presente trabajo. ≡

BIBLIOGRAFÍA

1. ARTEAGA D. Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios en *Conobea scoparioides*. Cali : Facultad de Ciencias, programa académico de Química, Universidad del Valle, Ciudad Universitaria Meléndez, 2008.
2. CERPA CH. M Guillermo. Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización. Valladolid. 2007.
3. CHOI, H. S.; SONG, H. S.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Radical scavenging activities of Citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. En : J. Agric. Food Chem., 48, (2000) p. 4156-4161.
4. DUNCAN K.L.; M.D Duncan.; M.C. Alley; E. A Sausville. Cucurbitacin E-induced disruption of the actin and vimentin cytoskeleton in prostate Carcinoma Cells. En : Biochemical Pharmacology. Volume 52, Number 10, 22 (1996); p.1553-1560(8).
5. FONNEGRA R., JIMÉNEZ S. Plantas Medicinales aprobadas en Colombia. Medellín : Editorial Universidad de Antioquia, 1999. 250 p.
6. FULLER, R.W.; CARDELLINA, J.H. II; CRAGG, G.M.; BOYD, M.R. 1994. Cucurbitacins - differential cytotoxicity, dereplication and first isolation from *Gonystylus keithii*. En : J. Nat. Prod. Vol. 57(1994); p. 1442-1445.
7. GUILHERME, Maia J. Química e atividade biológica de óleos essenciais da amazônia. Faculdade de Engenharia Química Universidade Federal do Pará. IV Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais Fortaleza -Ceará -Novembro.2007.
8. KAYA G.I; MELZIG M.F. . Quantitative determination of cucurbitacin E and cucurbitacin I in homeopathic mother tincture of *Gratiola officinalis* L. En : HPLC. Pharmazie. (Dec. 2008); 63(12):851-3.
9. JANG Ch B; HU-SUNG Sim; BYEONG-YONG Jeong; HYE-MIN Park y MAN-JIN Oh. Isolation of cucurbitacin E from pumpkin

- seed and analysis of its anti-cancer and anti-inflammatory activities. En: FASEB Journal; 22 (2008); 889.6
10. LI, J PERDUE, E.M.; PAVLOSTATHIS, S.G.; ARAUJO, R. Physicochemical properties of selected monoterpenes. En : Environment International, Vol. 42, Número 3 (1998); p. 353,358.
 11. MORAIS, A. A. de; MOURÃO, J. C.; GOTTLIEB, O. R.; SILVA, M. L. da; MARX, M. C.; GUILLERME Maia, J. G. S.; MAGALHÃES, M. T. . Óleos essenciais da Amazônia contendo timol. Acta Amazonica. En : Vol. 2, No. 1 (1972) p. 45-46,
 12. SMITH, H. Light quality and germination: Ecological implications, p. 219-231. En : HEYDECKER, W. Seed ecology. Butterworths, Londres : 1972.
 13. SADZUKA, Y; HATAKEYAMA ,H; SONOBE T. Enhancement of doxorubicin concentration in the M5076 ovarian sarcoma cells by cucurbitacin E co-treatment. En : J Pharm. (Sep. 2009)
 14. TEUSCHER, E; ANTON, R.; LOBSTEIN A. Plantes Aromatiques. Épices, aromates. Condiments et huiles essentielles. Paris : Editions Tec & Doc, 2005.
 15. VÁZQUEZ-YÁNEZ, Carlos & OROZCO-SEGOVIA Alma. Seed dormancy in the tropical rain forest. En : HADLEY, Malcolm Reproductive biology of tropical plants. París : UNESCO, 1990. p. 247-259.