

Determinación de la composición química de los aceites esenciales de Tomillo (*Thymus vulgaris*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) y su posible uso como antifúngico contra microorganismos fitopatógenos en productos agrícolas.



Carol Valentina Florez Chacon

Jhoan Sebastian Mojica Florez

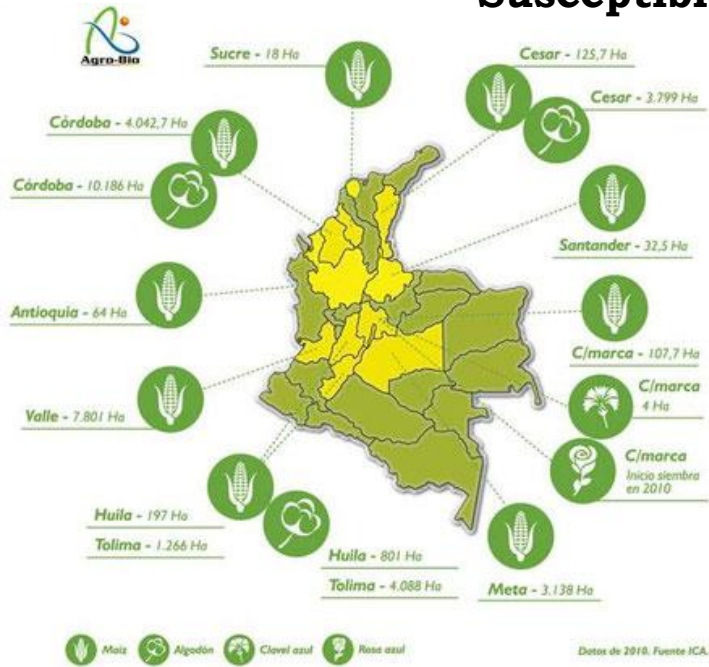
Asesora
Jovanna Acero Godoy MSc

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Bacteriología y laboratorio clínico
Bogotá D.C 2019

Tabla de contenido

- ❖ Introducción – Planteamiento del problema
- ❖ Objetivos
- ❖ Metodología
- ❖ Resultados
- ❖ Discusión
- ❖ Conclusiones

Susceptibles a:



Enfermedades causadas por fitopatógenos

Como:

Fusarium spp.



<http://www.labarracademaria.com/categoria-producto/control-de-plagas/control-de-plagas-por-plaga/>

Alternaria spp.



<http://www.eliminalahumedad.com/alternaria/>

Plaguicidas

Fusarium spp.

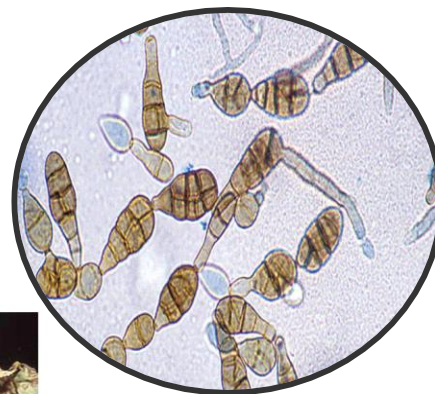
Producción de metabolitos tóxicos.



Enfermedades caracterizadas por marchitez, tizones, pudriciones en cultivos ornamentales

Alternaria spp.

Compuestos tóxicos, que afectan tanto a la planta como a humanos y animales.



Leaf spots with concentric rings. (Courtesy of Paul Bach)



Yellow halos surrounding leaf spots on melon leaves.



Manchas de color verde a marrón oscuro
Lesiones con aureola amarilla.

Infectan las hojas, las flores o las frutos

Plaguicidas para el control de patógenos agrícolas

Plaguicida



<https://www.agronegocios.co/agricultura/eliminar-malezas-consume-40-del-tiempo-de-los-agricultores-y-reduce-la-produccion-2802256>

Cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga

Se encuentran:

Carbendazim

Mancozeb

Clorotalonil

Fungicidas



Registro nacional de plaguicidas químicos de uso agrícola en Colombia

Bioplaguicida

Plaguicidas naturales derivados de extractos de materias naturales de plantas.

Ingredientes activos de los bioplaguicidas a base de sustancias bioactivas

Extractos botánicos

Bioactividad alta

Propiedades antifúngicas



Aceites esenciales

Propiedades antioxidantes

Propiedades antibacterianas

Aceites esenciales

Son mezclas de componentes volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas.

Terpénicos, alcoholes, cetonas, éteres, compuestos fenólicos, entre otros

Son separables por métodos físicos o químicos.

Tomillo

Romero

Los aceites esenciales están distribuidos en varias familias de plantas, como lo son la familia *Lamiaceae*



2015 Da Silva Bomfim *et.al.*

Actividad antifúngica e inhibición de la producción de fumonisina por el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* en *Fusarium verticillioides*.

AE con concentración de 150 ug/ml, el AE rompe la pared celular.

2019 Rahmouni, A *et. al.* efecto antifúngico de *Rosmarinus officinalis* contra *Fusarium oxysporum*. Caracterización química: 1,8-cineol, alcanfor y α - y β -pineno mayores compuestos. *Fusarium oxysporum* inhibido a 40 μ l/ml.

Antecedentes

2008 Ozcan M.M, *et. al.* AE de romero frente a *A. alternata* y *F. Oxysporum*, obtuvieron un rendimiento 1,9%, *A. alternata* inhibición parcial a 40 ug/ml, *F. oxysporum* inhibición parcial a 10 y 40 ug/ml.

2015 S. Hmiri *et. al.* Composición química y el efecto antifúngico del aceite esencial de romero, 23 compuestos (1,8 cineol mayor %). AE inhibió *A. alternata* (800 ul/l), *B. cinérea* (1200 ul/l) y *P. expansum* (>1800 ul/l)

Objetivos

General

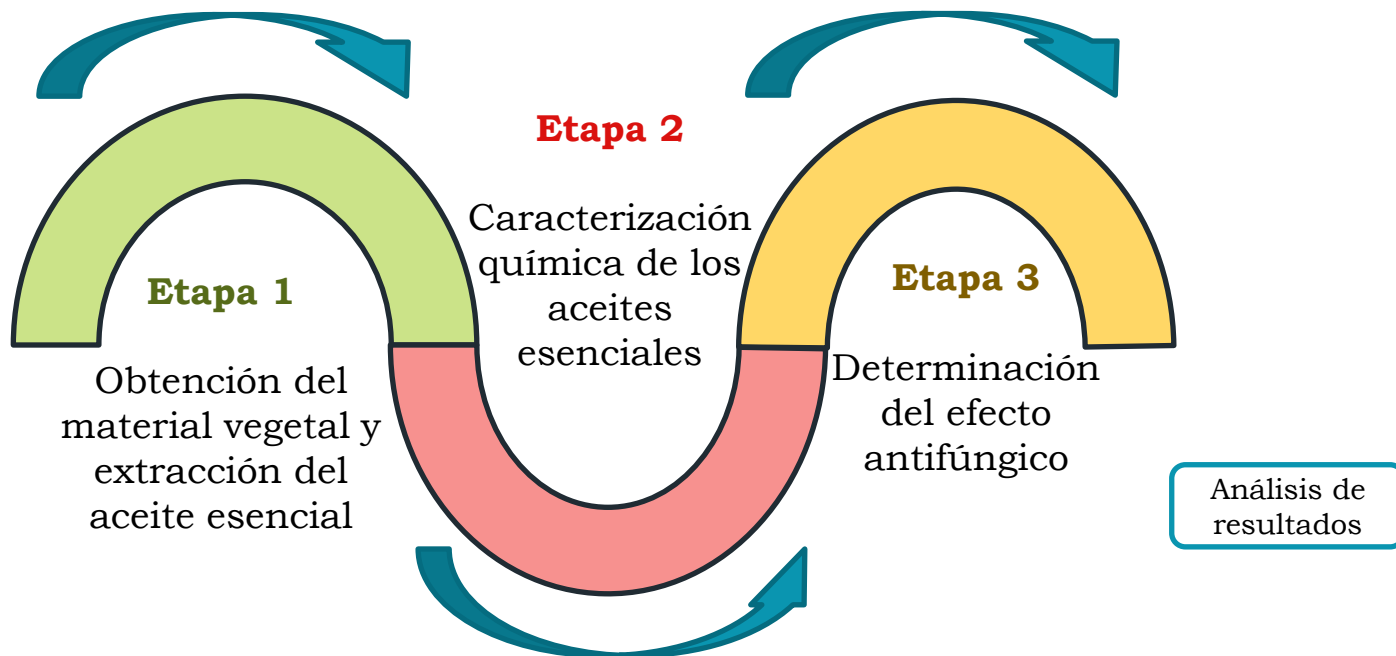
- ▶ Determinar la posible actividad antifúngica de los aceites esenciales en fitopatógenos de interés agrícola.

Específicos

- ▶ Realizar la extracción de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* evaluando rendimiento y peso seco.
- ▶ Efectuar la caracterización química de los aceites esenciales de *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*.
- ▶ Determinar la concentración específica o CMI en la que los aceites esenciales pueden inhibir el crecimiento de hongos patógenos en cultivos agrícolas.

Tabla de contenido

- ❖ Introducción – Planteamiento del problema
- ❖ Objetivos
- ❖ Metodología
- ❖ Resultados
- ❖ Discusión
- ❖ Conclusiones





UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

SEDE BOGOTÁ

FACULTAD DE CIENCIAS

INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES
HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)

COL - 55

Bogotá D.C., 22 de julio de 2019

Señores

SEBASTIAN MOJICA

Ciudad

Asunto: Identificación Taxonómica muestras

Cordial Saludo,

Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de la(s) muestra(s) botánica(s):

Nombre	FAMILIA	No. COL	Colector	No de Colecta	Determinó
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	LAMIACEAE	612138	Sebastian Mojica & Valentina Flórez	1R	Catalina Garzón L /2019
<i>Thymus vulgaris</i> L.	LAMIACEAE	612139	Sebastian Mojica & Valentina Flórez	1T	Catalina Garzón L /2019

Objetivos

General

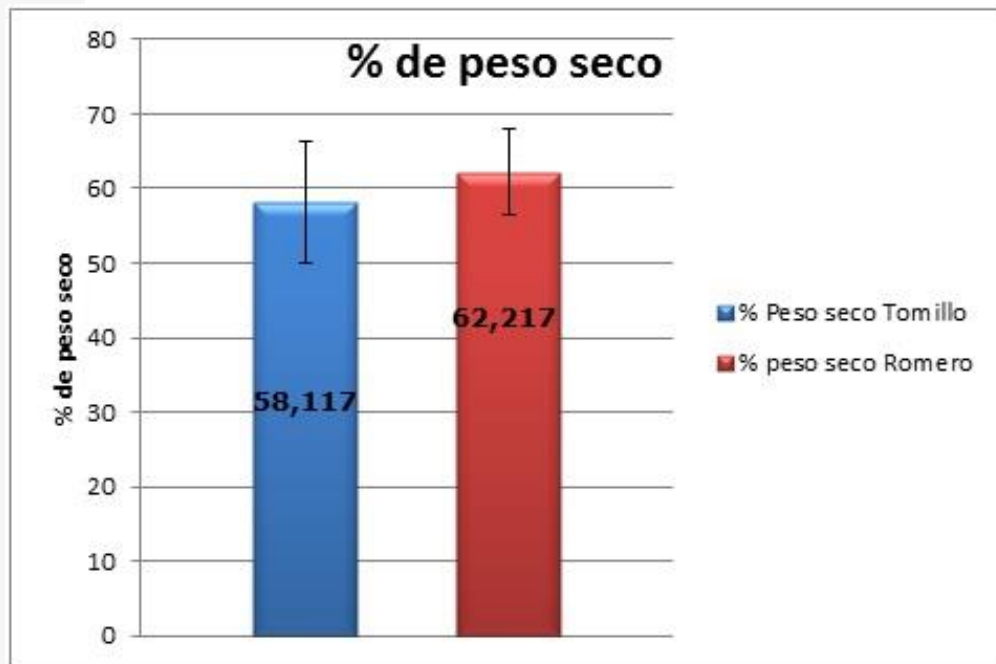
- ▶ Determinar la posible actividad antifúngica de los aceites esenciales en fitopatógenos de interés agrícola.

Específicos

- ▶ Realizar la extracción de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* evaluando rendimiento y peso seco.
- ▶ Efectuar la caracterización química de los aceites esenciales de *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*.
- ▶ Determinar la concentración específica o CMI en la que los aceites esenciales pueden inhibir el crecimiento de hongos patógenos en cultivos agrícolas.

Análisis del peso seco

Secado con 10 gr de material vegetal



Material vegetal post secado

Porcentaje de peso seco de tomillo y romero.

Extracción del aceite esencial



3 repeticiones
1.008 a 1.400 g

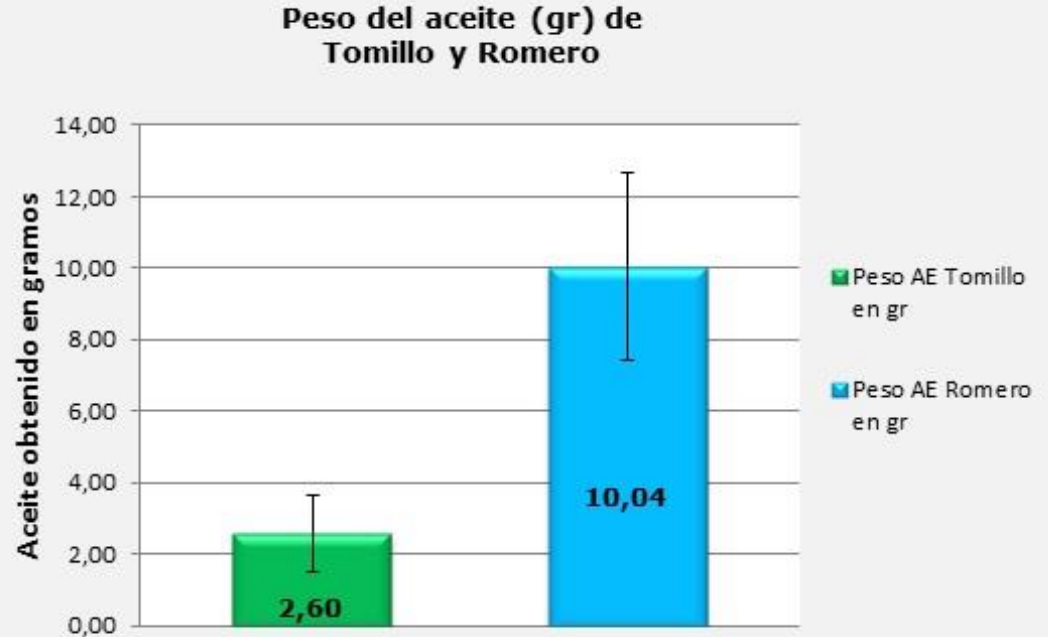


4 repeticiones
560 a 1.450 gr

Destilación por arrastre de vapor

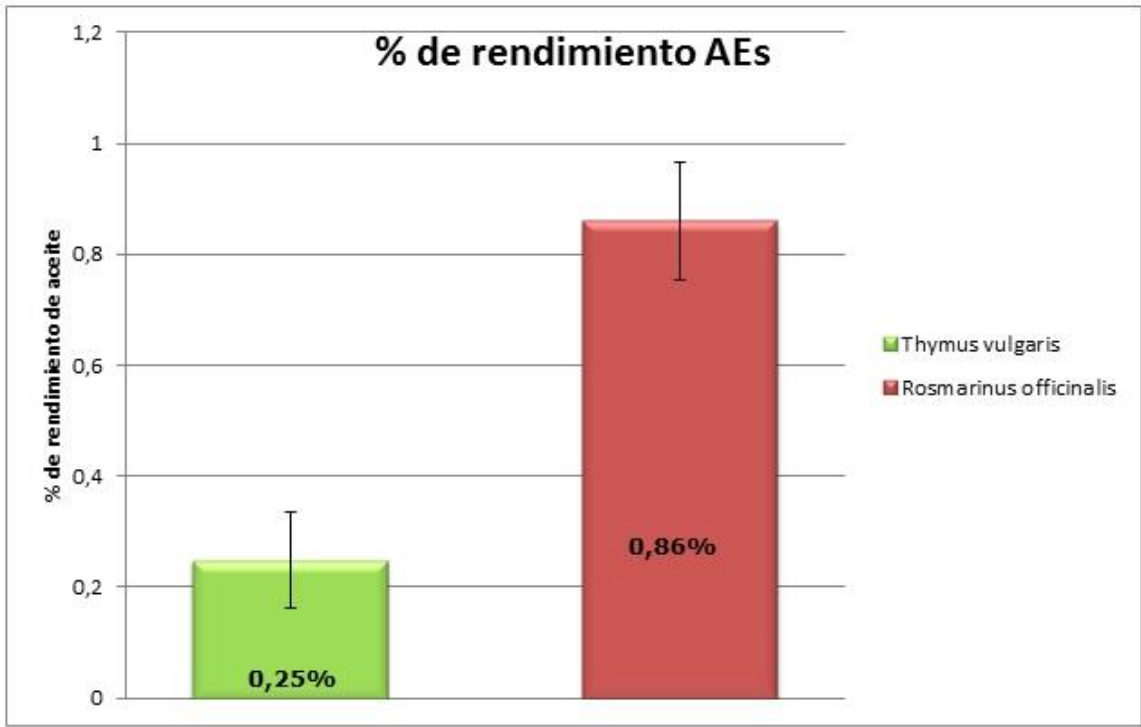


Se obtuvieron



Peso del aceite en gramos de *Thymus Vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*.

Rendimiento de la extracción



Martinello et.al.
2005

Torrenegra M, et.al.
2017

Rendimiento del aceite esencial de *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*.

Objetivos

General

- ▶ Determinar la posible actividad antifúngica de los aceites esenciales en fitopatógenos de interés agrícola.

Específicos

- ▶ Realizar la extracción de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* evaluando rendimiento y peso seco.
- ▶ Efectuar la caracterización química de los aceites esenciales de *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*.
- ▶ Determinar la concentración específica o CMI en la que los aceites esenciales pueden inhibir el crecimiento de hongos patógenos en cultivos agrícolas.

Composición química de los AE

19

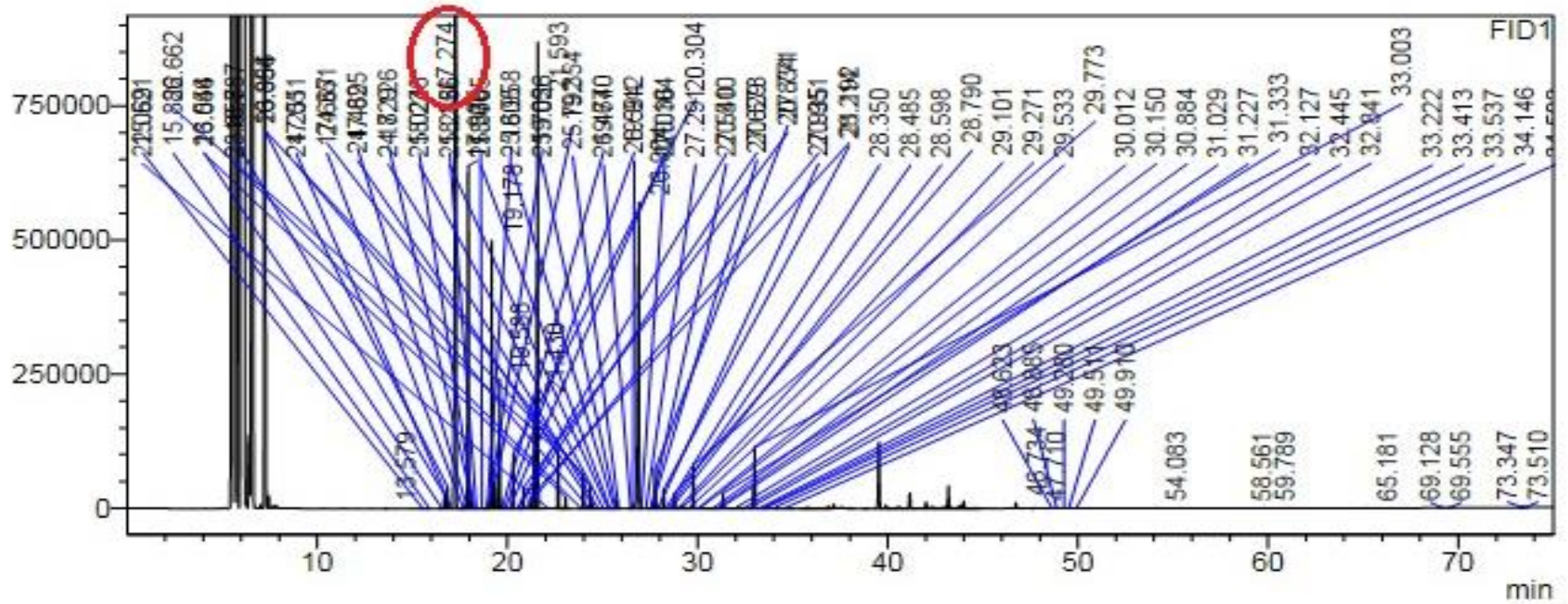


Cromatógrafo de gases Shimadzu GC2010 acoplado a un detector de ionización de llama FID y cromatógrafo de gases Shimadzu GC2010 acoplado a un detector selectivo de masas MS/GCTQ8040

<Chromatogram>

uV

Romero



Determinación de la abundancia relativa de los compuestos mediante Cromatografía de gases acoplado a un detector por ionización de llama (GC-FID)

Rosmarinus officinalis

α -Pino (22,4%),
1,8 cineol (16,6%) y
P-Mentha-2,4(8)
dieno (12,3%)

Takayama C,
et.al. 2016

Bouyahya A, et.al.
2017

	T de retención	Columna HP-5MS	Teórico (Adams 2007)	<i>R. officinalis</i>	<i>T. vulgaris</i>
Compuesto	TR _r	IR _t	IR _L	%	%
α -Pino	17.128	938	939	22.480	1.148
O-Cimeno	21.309	1032	1026	-	17.200
γ -Terpineno	23.065	1064	1059	1.602	33.473
1,8-Cineol	22.272	1042	1031	16.601	0.762
2,4(8)-p-Mentadieno	26.894	1095	1088	12.375	-
Timol	31.498	1307	1290	-	17.422

Thymus Vulgaris

γ -Terpineno (33,4%),
O-cimeno (17,20%) y
Timol (15,9%)

Miladi H, et.al.
2013

Marques M, 2015

Composición química del AE de romero y tomillo

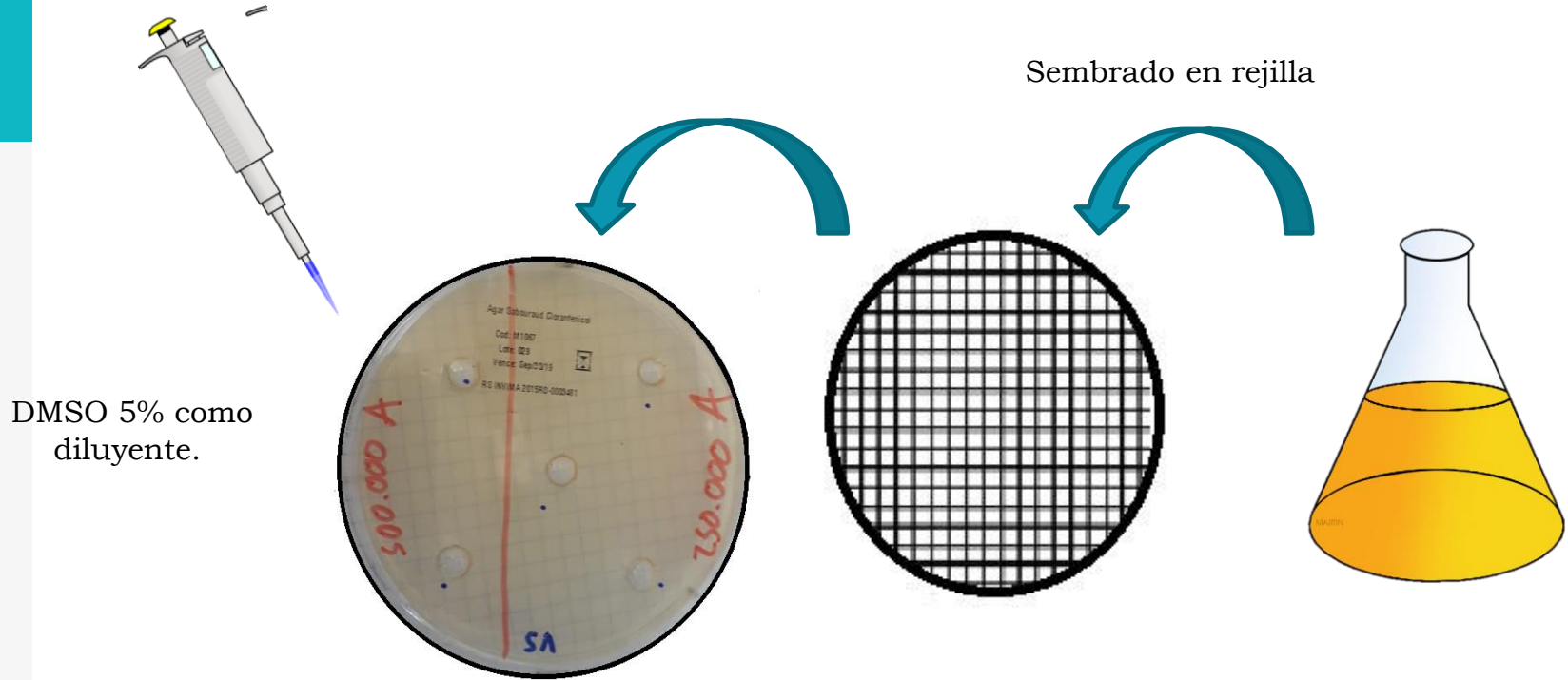
Objetivos

General

- ▶ Determinar la posible actividad antifúngica de los aceites esenciales en fitopatógenos de interés agrícola.

Específicos

- ▶ Realizar la extracción de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* evaluando rendimiento y peso seco.
- ▶ Efectuar la caracterización química de los aceites esenciales de *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*.
- ▶ Determinar la concentración específica o CMI en la que los aceites esenciales pueden inhibir el crecimiento de hongos patógenos en cultivos agrícolas.



DMSO 5% como diluyente.

Método de difusión en agar, pozos hechos en medio del agar.

Cepa	[] de AE (mg/mL)	Halo de inhibición (mm)
<i>Fusarium spp.</i>	AE puro	Inhibición total
	500	27 mm ± 2.05
	250	24 mm ± 2.94
	125	6 mm ± 0.82
	100	NH
	50	NH
	25	NH
	12.5	NH
	8	NH
	5	NH
	2.5	NH
	1	NH
	DMSO	NH
	Control (+)	14 mm ± 0.82
Control (-)	NH	

NH: No presenta halo de inhibición

Cepa	[] de AE (mg/mL)	Halo de inhibición (mm)
<i>Alternaria spp.</i>	AE puro	Inhibición total
	500	Inhibición total
	250	Inhibición total
	125	12 mm ± 3.68
	100	13 mm ± 2.36
	50	NH
	25	NH
	12.5	NH
	8	NH
	5	NH
	2.5	NH
	1	NH
	DMSO	NH
	Control (+)	14 mm ± 0.82
Control (-)	NH	

NH: No presenta halo de inhibición

Determinación de la concentración mínima inhibitoria de AE de Romero frente a *Fusarium spp.* y *Alternaria spp.*

Rivas A, *et. al*

Determinaron que α -Pineno inhibió crecimiento de *C. albicans*, concluyendo la potencialidad que presenta este compuesto frente a hongos.

Determinaron que 1,8 cineol inhibió redujo el crecimiento de varias especies de *Fusarium* spp.

Morcía C, *et. al*

Conclusiones

1. La destilación por arrastre de vapor es de las más usadas y sigue mostrando gran viabilidad para su uso, sin embargo el rendimiento de los aceites esenciales es dependiente del método de extracción utilizado para su obtención.

2. Los compuestos químicos caracterizados en este proyecto se correlacionan con otras investigaciones, permitiendo deducir que son estos compuestos los que les confiere la actividad antifúngica al aceite esencial.

3. El aceite esencial de romero presentó mayor inhibición del crecimiento de *Alternaria* spp.

Recomendaciones

Ya que son importante las condiciones del crecimiento de la planta, se sugiere usar material biológico de un cultivo propio con el fin de controlar las variables para asegurar una población homogénea.

Si es posible, usar otros métodos de extracción como la extracción asistida por microondas, debido su alta efectividad y rapidez.

Se recomienda realizar las pruebas de inhibición de los aceites esenciales in vivo a fin de comprobar su viabilidad en campo.

Se sugiere realizar estudios de los compuestos por separado con el fin de determinar cuál de estos es el que presenta la mayor actividad antifúngica.

GRACIAS

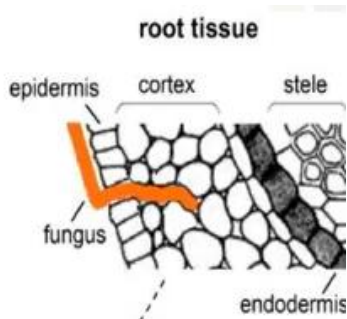
Referencias

- ▶ Barrera Necha L, García Barrera L. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). Revista UDO agrícola [Internet]. 2008; 8(1):33-41 [citado 19 Octubre 2018]. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg08005>
- ▶ Özcan MM, Chalchat JC. Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *Int J Food Sci Nutr*. 2008;59(7–8):691–8.
- ▶ Niurka A, Lauzardo H, Bautista Baños S, Gerardo Velázquez Del Valle M. PROSPECTIVA DE EXTRACTOS VEGETALES PARA CONTROLAR ENFERMEDADES POSTCOSECHA HORTOFRUTÍCOLAS PROSPECTIVE OF PLANT EXTRACTS FOR CONTROLLING POSTHARVEST DISEASES OF HORTICULTURAL PRODUCTS. Vol. 30, Artículo de Revisión *Rev. Fitotec. Mex.* 2007.
- ▶ Elshafie HS, Mancini E, Camele I, Martino L De, De Feo V. In vivo antifungal activity of two essential oils from Mediterranean plants against postharvest brown rot disease of peach fruit. *Ind Crops Prod*. 2015 Feb 1;66:11–5.

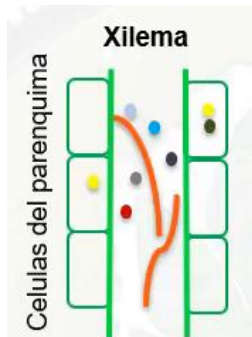
- ▶ Hmiri S, Harhar H, Rahouti M. Antifungal activity of essential oils of two plants containing 1,8-cineole as major component: *Myrtus communis* and *Rosmarinus officinalis*. *J Mater Environ Sci* [Internet]. 2015 [citado 2019 Oct 12];6(10):2967–74. Disponible en: www.graphpad.com.
- ▶ Da Silva Bomfim N, Nakassugi LP, Faggion Pinheiro Oliveira J, Kohiyama CY, Mossini SAG, Grespan R, et al. Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Food Chem*. 2015 Jan 1;166:330–6.
- ▶ Rueda-Puente EO, Juvera Bracamontes JJ, Romo López IG, Holguín Peña RJ. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de orégano y tomillo contra *Ralstonia solanacearum*. *Rev Mex Ciencias Agrícolas*. 2018 Mar 22;(20).
- ▶ Rahmouni A, Saidi R, Khaddor M, Pinto E, Da Silva Joaquim Carlos Gomes E, Maouni A. Chemical composition and antifungal activity of five essential oils and their major components against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* of Moroccan palm tree. *Euro-Mediterranean J Environ Integr*. 2019 Dec;4(1).



Coloniza la raíz
en las primeras
horas



Proteínas SIX



Hifas



Interacción gen por gen

Fol

Fusarium oxysporum. sp. lycopersici

