

COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL EN POBLACIONES ARGENTINAS DE *TAGETES FILIFOLIA* LAG. (*COMPOSITAE*)

D. M. Maestri*, J. A. Zygodlo*, N. R. Grosso*, R. E. Abburra* y C. A. Guzmán*

Recibido: 25 abril 1991

Aceptado: 14 noviembre 1991

SUMMARY

Essential oil composition in *Tagetes filifolia* Lag. (*Compositae*) populations.

Essential oil content and composition of *Tagetes filifolia* (*Compositae*) were analysed from six wild populations growing in Argentina. No significant variations were found in the quantitative composition of the majoritary monoterpenes of the different populations. Anetol (68,1%) and estragol (29,5%) were the main components. The different habitats affected the total essential oil yield but no different in the terpenoid profiles were detected.

Key words: *Tagetes filifolia*, *Compositae*, essential oil, effects of environment.

RESUMEN

Se analizaron el contenido y la composición del aceite esencial de *Tagetes filifolia* (*Compositae*) de seis poblaciones silvestres de Argentina. No se encontraron variaciones significativas en la composición cuantitativa de los monoterpenos mayoritarios de las diferentes poblaciones. Los principales compuestos fueron anetol (68,1%) y estragol (29,5%). El rendimiento de aceite esencial presentó variaciones en los distintos ambientes.

Palabras clave: *Tagetes filifolia*, *Compositae*, aceite esencial, efectos ambientales.

INTRODUCCIÓN

El género *Tagetes* es esencialmente americano. Se le asignan actualmente unas 50 especies entre las que se encuentra *T. filifolia* que es una hierba anual de fragancia anisada (ARIZA ESPINAR, 1967).

Los terpenos han sido utilizados extensamente en estudios quimiosistemáticos (WILLIAMS & BANNISTER, 1962; ALSTON & TURNER, 1963;

FORDE, 1964). Estos trabajos estaban basados usualmente sobre la asunción de que la variación dentro de una especie es relativamente pequeña (HANOVER, 1966). Si bien esto puede ser válido en algunos casos, BANNISTER *et al.* (1962) han demostrado que el nivel de terpenos dentro de una especie puede variar de acuerdo al origen geográfico.

Teniendo en cuenta que la composición de terpenos es susceptible a la influencia ambiental

* Cátedra de Química Orgánica. Depto. de Química. Fac. de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. Casilla de Correo 495. 5000 Córdoba. Argentina.

(RHOADES, 1979; COASSINI LOKAR *et al.*, 1987; HALL & LANGENHEIM, 1987; ZAVARIN *et al.*, 1990; ZYGADLO *et al.*, 1990), es objetivo del presente estudio verificar la variabilidad de *T. filifolia* en distintas áreas fitogeográficas de Argentina. Los hábitats cubiertos incluyen bosque serrano, romerillal, espinal, pastizales de altura (LUTI, 1979), y chaco serrano con elementos de yungas (CABRERA, 1976).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal: Se estudiaron 42 muestras de plantas normales en estado de floración-fructificación, incluyendo el cultivo de material en laboratorio a una temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, sobre arena lavada. Estas muestras fueron designadas como testigo. Detalles del material vegetal utilizado se indican en la tabla 1. Los correspondientes ejemplares de herbario se encuentran depositados en el Museo Botánico (CORD) de la Universidad Nacional de Córdoba.

Obtención del aceite esencial: Se pesaron para cada una de las muestras 100 g. de material fresco los cuales fueron extraídos mediante destilación por arrastre con vapor de agua durante 3 horas. Se calculó el rendimiento de aceite de acuerdo a la metodología de Retamar *et al.*, (1981). La esencia se conservó a -15°C en oscuridad.

Cromatografía gas-líquido: Las esencias fueron analizadas en un cromatógrafo de gases SHIMADZU GC-R1A equipado con detector de ionización de llama

y con una columna capilar tipo F.S.O.T. SHIMADZU HICAP-C.B.P. 5, fase estacionaria SE-30 (no polar), de 25 m. de longitud, 0,25 mm. de diámetro interno y 0,25 μm de espesor de fase. La temperatura de la columna fue fijada en 140°C y la del inyector en 230°C . Se operó isotérmicamente durante 5 minutos, aumentando luego 3°C por minuto. La temperatura final de la columna se fijó en 200°C . El flujo de nitrógeno fue de 200 ml. por minuto y la relación de split 1:80. El área y los tiempos de retención fueron calculados en un procesador de datos SHIMADZU modelo RPR-G1.

La identificación de los distintos componentes de la mezcla se realizó por comparación con patrones (International Flavors and Fragans Co.). La separación de los compuestos principales se llevó a cabo por cromatografía gas-líquido preparativa, utilizando un colector de fracciones automático APP5. Columna: SE-30, de 180 cm. de longitud y 8 mm. de diámetro. Temperatura de la columna: 160°C . Temperatura del inyector: 250°C Presión de nitrógeno: 2,5 kg. La confirmación de las estructuras se efectuó por espectroscopia de resonancia magnética nuclear en un espectrómetro VARIAN aerograph de 60 Mhz, de acuerdo a la metodología descrita por ABBURRÁ *et al.* (1990).

Análisis numérico: Se realizó un análisis preliminar para determinar el tamaño mínimo de la muestra, con un nivel de significación de 0,05 (PARKER, 1976; ORLOCI & KENKEL, 1985). Este análisis evidenció que 6 muestras por población (cada una compuesta de 30 plantas) eran significativas. El análisis

TABLA 1. Datos de recolección del material vegetal. Cba.: Córdoba. Alt.: altura sobre el nivel del mar de la población en metros

Locations and elevations of sampling sites. Cba: Córdoba. Alt.: Altitude (m).

	Poblaciones	Alt.	Áreas fitogeográficas
<i>T. filifolia</i>	I Cba: El Durazno Maestri 16	1133	Arbustal de altura o romerillal.
	II Cba: Alta Gracia Maestri 13	700	Espinal.
	III Cba: Copina Grosso 15	1460	Romerillal-pastizales de altura (subpiso inferior).
	IV Cba: Candonga Maestri 14	1140	Bosque serrano.
	V Cba: La Falda Zygadlo 10	930	Bosque serrano.
	VI Salta: Capital Maestri 18	1221	Chaco serrano con elementos de yungas.
	VII Cba: Capital Maestri 17	425	Testigo.

TABLA 2. Composición y rendimiento del aceite esencial en las poblaciones de *T. filifolia*. Se expresan los valores medios (como porcentajes respecto del total) \pm sus desvíos estandar para $n=6$. Tr.= valores trazas cuyos porcentajes son inferiores al 0,5%. Los caracteres del 1 al 6 corresponden a los compuestos no identificados. Ald. anísico= aldehído anísico. Rend.= rendimiento de esencia en ml x 100 g. de tejido fresco. Long.= longitud de las plantas en cm. Para los códigos de las poblaciones ver tabla 1.

Quantitative composition (% of total monoterpenes) and total yield in *T. filifolia* populations. Results are expressed as the mean \pm standard deviation for $n= 6$. Tr.: trace amounts (<0,5%). From 1 to 6 compounds unknown. Ald. anísico: Aldehyde anísico. Rend.: total yield mol essential oil x 100 g. fresh tissue. Long: lenght plant (cm). Populations numbers are indexed in Table 1.

Compuesto	Poblaciones						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
α pineno	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
ocimeno	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
estragol	30,7 \pm 5,4	32,2 \pm 2,5	28,2 \pm 5,4	27,8 \pm 1,7	28,4 \pm 3,6	31,9 \pm 4,5	27,5 \pm 5,6
ald. anísico	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
anetol	67,5 \pm 5,1	65,4 \pm 2,5	67,2 \pm 3,9	70,3 \pm 1,6	69,8 \pm 1,0	66,4 \pm 5,5	69,7 \pm 5,5
1	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
2	tr.	tr.	0,96 \pm 1,0	tr.	tr.	tr.	tr.
3	tr.	0,78 \pm 0,4	1,83 \pm 0,4	0,96 \pm 0,5	0,90 \pm 0,2	tr.	1,21 \pm 0,7
4	0,82 \pm 0,2	0,66 \pm 0,3	0,89 \pm 0,5	tr.	tr.	0,92 \pm 0,4	0,86 \pm 0,4
5	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
6	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
Rend.	0,95 \pm 0,3	0,67 \pm 0,1	1,21 \pm 0,2	0,84 \pm 0,2	0,96 \pm 0,1	1,31 \pm 0,2	0,63 \pm 0,1
Long.	48,5 \pm 9,9	53,1 \pm 8,7	28,4 \pm 5,8	36,0 \pm 9,7	32,1 \pm 5,1	36,6 \pm 4,5	22,4 \pm 2,9

TABLA 3. ANOVA, resultados de la variación entre las poblaciones. g. l.= grados de libertad
ANOVA, results for variation among populations. g. l.: degree free

Compuestos	Cuadrado de la media en la población. g.l.= 35	Cuadrado de la media entre poblaciones. g.l.= 6	F
α pineno	0,007	0,015	2,25
ocimeno	0,003	0,005	1,72
estragol	18,97	24,36	1,28
ald. anísico	0,007	0,008	1,09
anetol	16,05	37,60	2,34
1	0,257	0,446	1,74
2	0,180	1,453	8,08
3	0,113	0,232	2,05
4	0,037	0,083	2,28
5	0,014	0,003	0,24
6	0,122	0,402	3,30
Rend.	0,031	0,392	12,7
Long.	70,09	702,6	10,0

de la varianza y los cálculos estadísticos descriptivos fueron efectuados con el programa Microstat Ecosoff.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que todas las poblaciones presentan un rendimiento homogéneo de los compuestos analizados (tabla 2), representando la suma de los isómeros estragol y anetol el 97% de la esencia aproximadamente.

BOHRMANN & YOUNGKEN (1968) encontraron que el estragol representaba el 95% del aceite de *T. filifolia* de Argentina. Sin embargo, ABBURRÁ *et al.* (1990) en un estudio realizado en una población de *T. filifolia* de la provincia de Córdoba, aislaron anetol y estragol como constituyentes principales de la esencia, con valores aproximados al 60 y 30% respectivamente. Los porcentajes hallados en este trabajo se aproximan a estos últimos, ya que, consideradas todas las poblaciones, el valor medio para el anetol es 68,1% y para el estragol 29,5% (tabla 2).

HANOVER (1966) ha demostrado que la composición cuantitativa de monoterpenos se encuentra bajo estricto control genético, mientras que la producción total es mucho más susceptible a la influencia ambiental. El análisis de varianza (ANOVA) indicó una variación altamente significativa ($P=0,05$) entre las poblaciones para el rendimiento de aceite y el tamaño de las plantas (tabla 3). La escasa variación existente en la composición de las esencias de plantas procedentes de las distintas áreas fitogeográficas, indica que la biosíntesis de terpenos en *T. filifolia* no sería afectada por los factores ambientales característicos de las zonas de crecimiento. Parece, sin embargo, que existe alguna relación entre la altura sobre el nivel del mar de la población y su rendimiento de aceite, no así con el tamaño de la planta (tablas 1, 2).

Los resultados del estudio indican que las variaciones observadas en la altura de las plantas y en el rendimiento de la esencia podrían deberse a una respuesta adaptativa de las poblaciones a los distintos hábitats lo cual no se refleja en una diversidad química de la especie.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la Bióloga Claudia E. Serrano por sus comentarios críticos sobre este manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- ABURRÁ, R. E., ZYGADLO, J. A., GROSSO, N. R. & GUZMÁN, C. A. 1990: Estudio del aceite esencial de *Tagetes filifolia* (Asteraceae) como potencial productor de estragol y anetol. *An. Asoc. Quim. Arg.* 78(3): 153-154.
- ALSTON, R. E. & TURNER, B. L. 1963: *Biochemical Systematics*. Prentice, Hall, Inc. New Jersey.
- ARIZA ESPINAR, L. 1967: Las especies de *Tagetes* (Compositae) de la región central Argentina. *Kurtziana*, 4: 51-71.
- BANNISTER, M. H., WILLIAMS, A. L., Mc DONALD, I. R. & FORDE, M. B. 1962: Variation of turpentine composition in five population samples of *Pinus radiata*. *New Zealand. Four. Sci.*, 5: 486-496.
- BOHRMANN, H. & YOUNGKEN, W. 1968: Esdragole, the main compound in the volatile oil of *Tagetes filifolia* (Compositae). *Phytochemistry*, 7: 1.415-1.417.
- CABRERA, A. L. 1976: *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Regiones Fitogeográficas Argentinas*, Vol. 2. Acme, Buenos Aires.
- COASSINI LOKAR, L., MAURICH, V., MELLERIO, G., MONEGHINI, M. & POLDINI, L. 1987: Variation in terpene composition of *Artemisa alba* in relation to environmental conditions. *Biochem. Syst. Ecol.* 15(3): 327-333.
- FORDE, M. B. 1964: Inheritance of turpentine composition in *Pinus attenuata x radiata* hybrids. *New Zealand. Four. Bot.* 2: 53-59.
- HALL, G. D. & LANGENHEIM, J. H. 1987: Geographic variation in leaf monoterpenes of *Sequoia sempervirens*. *Biochem. Syst. Ecol.* 15(1): 31-43.
- HANOVER, J. W. 1966: Gene control of monoterpene leaves in *Pinus monticola* Dougl. *Heredity* 21: 73:75.
- LUTI, R. 1979: Vegetación. In MIATELLO, H. (Ed.): *Geografía física de la provincia de Córdoba*. Vol. 6. Boldt. Córdoba.
- ORLOCI, L. & KENKEL, N. C. 1985: *Introduction to data analysis*. International Co. Publishing House, Maryland.
- PARKER, R. E. 1976: *Estadística para biólogos*. Omega, Barcelona.
- RETAMAR, J. A., DELFINI, A. A. & ITURRASPE, J. B. 1981: Aceite esencial de *Lipia integrifolia*. *Essenze derivati agrumari*, 1: 40-43.
- RHOADES, D. F. 1979: Herbivores, their interaction with secondary metabolites. In ROSENTHAL, G. A. & JANZEN, D. H. (Eds.): *Herbivores*. Ac. Press, New York.
- WILLIAMS, A. & BANNISTER, M. H. 1962: Composition of gum turpentines from twenty-two species of pines grown in New Zealand. *Pharm. Sci.* 51: 970-975.
- ZAVARIN, E., SNAJBERK, K. & COOL, L. 1990: Monoterpene variability of *Pinus monticola* Wood. *Biochem. Syst. Ecol.* 18(2/3): 117-124.
- ZYGADLO, J. A., GROSSO, N. R., ABBURRÁ, R. E. & GUZMÁN, C. A. 1990: Essential oil variation in *Tagetes minuta* populations. *Biochem. Syst. Ecol.* 18(6): 405-407.