

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA

AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL

DEPARTAMENTO DE ECOSISTEMAS AGROFORESTALES



**ECOLOGÍA QUÍMICA Y ACTIVIDAD
BIOLÓGICA DE LAS ESPECIES PERENNES
DE *Satureja* L. EN LA PENÍNSULA IBÉRICA**

TESIS DOCTORAL

DAVID GARCÍA RELLÁN

VALENCIA, JULIO DE 2013

DIRECTORES: HERMINIO BOIRA TORTAJADA

M^a AMPARO BLÁZQUEZ FERRER

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios ha llegado ya el momento... Pensaba que no quería llegar nunca, pero siempre llega todo en esta vida. Parece que fue ayer cuando fui al despacho de Herminio a preguntar por una beca de colaboración... y aquí sigo unos cuantos años después. Cuando llegas a estas alturas, echas un vistazo a todo lo que ha pasado en este tiempo y te planteas la pregunta: ¿ha merecido la pena? La respuesta en este caso no deja de ser un clásico: Por supuesto. Gracias a todos por haberme ayudado a ir madurando no sólo como profesional sino también como persona. Gracias.

En primer lugar quería agradecer a D. Herminio Boira haberme permitido realizar esta tesis. Gracias por haberme guiado a lo largo de este tiempo, por contagiarme ese entusiasmo por las plantas, por su empeño en que logre conseguir "hablar" con ellas, preguntarles qué les pasa, por qué están ahí, qué es lo que han hecho para poder llegar donde están... Gracias por todo lo que he aprendido en este tiempo, por haberme inculcado la necesidad de aprender y de ser crítico conmigo mismo.

Gracias a M^a Amparo Blázquez, sin la cual tampoco habría sido posible hacer esta tesis. Gracias por enseñarme e introducirme en el bonito mundo de los aceites esenciales. Gracias por haberme enseñado a tener espíritu científico, a no rendirme ante las adversidades, a superar todos los problemas que han ido surgiendo. Gracias por tu infinita paciencia y por tu prontitud y solicitud en todo momento.

A Mercedes... ¿Cómo agradecerte todo este tiempo? Gracias por todo, por haberme ayudado desde que entré aquí y haber sido mi referente en todo momento, por tu compañía y trabajo, por los viajes a por *Satureja*, por todas esas horas de laboratorio destilando, sembrando, contando semillas, ensayos de invernadero, viajes a Italia, a los congresos, a Chile..., por todos los consejos, por apoyarme en esos momentos malos y hacer que los buenos fueran todavía mejores. Sin ti no creo que hubiera llegado hasta donde estoy. Muchas gracias, de verdad.

A Juan Antonio, que en el poco tiempo que llevamos juntos ha sido una grata compañía en el despacho y siempre ha estado dispuesto a ayudar en lo que sea. Por esas conversaciones sobre la vida que te hacen recordar qué es lo importante.

A Tono, porque hace que se contagie esa ilusión con la que hace las cosas, por esa alegría que transmite que hace que los buenos momentos sean inolvidables y los malos pasen rápidamente.

A todos los que han ido pasando por la unidad de "Recursos Naturales" del IAM. A Begoña, que aunque está metida en mil cosas siempre tiene un momento para alegrarte el día. A Lorena, por todos los buenos y malos momentos que hemos pasado juntos y por sacarme siempre una sonrisa cuando más lo necesitaba. A Melania, por todas las risas que nos hemos echado y por hacer más llevadera la estancia en el laboratorio. A Quique,

por confiar (a quién se le ocurre... ;) en mí para el trabajo de fin de carrera. A Clemente, por su ayuda en la puesta a punto del laboratorio de suelos y por su capacidad de trabajo. A todos los que han ido pasando por aquí y que han hecho que el día a día sea más llevadero: Susana, Paco, Paco Raga, Judith, Laura...

A todos los italianos!!!! Gracias a todos por hacer que me sintiera como en casa y por todos los buenos momentos que me habéis regalado: a Adele, Marcello Millitello, Santo, Silvia, Claudia, Cinzia, Giusi, Marcello, Giancarlo, Giovanni, Antonio, Alessandra... Quería dar las gracias de una manera muy especial a Adele, por haber aceptado ser mi tutora en Palermo, por todo lo que he aprendido con ella en el CRA, por todos sus consejos, por todos esos momentos en el CRA hasta las tantas para poder terminar los ensayos, por esas ganas de trabajar que me has transmitido, por esos viajes supersónicos en moto :). Gracias también a Marcello por acogerme desde un primer momento y hacer que mi vida en Palermo fuera mucho más fácil y bonita. Gracias a Santo, por esa extroversión y autenticidad que le hacen único, por haberme ayudado siempre, haber estado pendiente de mí y por haberme tratado como a un hijo. Gracias también a Giovan Vito Zizzo por la oportunidad de poder trabajar en el CRA y por agilizar todos los trámites y problemas que iban surgiendo.

A todos los del grupo de Ecología Química del IAM. A Jaime Primo, Sandra, Nuria, Pau, Javi y Bea por haberme dejado "pinchar" allí las muestras, por todo el trabajo que han realizado para ayudarme y por toda la ayuda prestada.

Al Servicio de Espectroscopía de la Universitat de València, por las instalaciones que han dejado a nuestra disposición. Al Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios de la UPV, por dejarme también los laboratorios y en especial a Carmina por su atención y ayuda.

Al resto de miembros de la Unidad de Botánica. A Pilar, Javier Esteras, Mónica, Francisco, Hugo y María por su ayuda y recomendaciones.

A todos los miembros del IAM, que aunque no he compartido con ellos mucho tiempo siempre hacen más agradable el día a día: Manolo, Carlos, Carmina, Amparo, Vicent, Roberto, Natalia, Ferrán, Toñi, Paco Ferragut, Paloma, Juan, Juan Antonio, Álex, Cristina, Altea... En especial a Juan Antonio, por todo ese tiempo en Palermo...

A mis compañeros del poli con los que he aprendido tantas cosas en esta carrera, a mis amigos y a los de la parroquia, los de la comu, por todos los momentos que hemos pasado juntos y por estar ahí cuando los necesitaba. A todas las personas que se han cruzado en mi camino y han contribuido en mi formación profesional o como persona.

A mi familia, por haber estado en todo momento a mi lado, por darme ánimos, por estar apoyándome cuando más lo necesitaba y por haberme enseñado a valorar lo que realmente importa en esta vida.

PUBLICACIONES Y CONGRESOS

García-Rellán, D., Verdeguer, M., Blázquez, M.A., Boira, H., 2009. Seasonal variability of the essential oil composition in *Satureja montana* L. growing in Spain, en: Future Trends in Phytochemistry in the Global Era of Agri-food and Health. Oral communication. Abstract Book, Murcia, Spain, 12-14 May 2009, p. 120.

Verdeguer, M., García-Rellán, D., Boira, H., Pérez, E., Gandolfo, S., Blázquez, M.A., 2011. Herbicidal activity of *Peumus boldus* and *Drymis winterii* essential oil from Chile. *Molecules* 16: 403-411.

García-Rellán, D., Verdeguer, M., Blázquez, M.A., Boira, H., 2012. Antioxidant activity of essential oils from *Satureja* growing in Spain, en: 43rd International Symposium on Essential Oils. Poster. Abstract Book, Lisboa, Portugal, 5-8 September 2012, p. 104.

García-Rellán, D., Salamone, A., Blázquez, M.A., Boira, H., 2013. Composition and antifungal activity of *Satureja montana* L. essential oil against fungal pathogens associated with grapevine declines, en: 17th Reinhardtsbrunn Symposium on Modern Fungicides and Antifungal Compounds. Abstract Book. Friedrichroda, Germany, 21-25 April 2013, p. 168.

García-Rellán, D., Verdeguer, M., Blázquez, M.A., Boira, H., 2013. Actividad herbicida del aceite esencial de *Satureja montana* L., en: XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología (SEMh). Poster. Valencia, España, 5-7 noviembre 2013. Aceptado.

García-Rellán, D., Salamone, A., Blázquez, M.A., Boira, H., 2013. Antifungal activity of *Satureja montana* L. essential oil., en: 44th International Symposium on Essential Oils (ISEO). Poster. Budapest, Hungary, 8-12 September 2013. Aceptado.

RESUMEN

A diferencia de los metabolitos primarios, indispensables para el desarrollo y crecimiento de las plantas, los metabolitos secundarios llevan a cabo funciones especiales como atraer polinizadores, proteger las plantas contra enemigos biológicos y otras formas de resistencia frente a factores adversos. Aunque la mayoría de estos productos naturales intervienen en la interacción y defensa de las plantas frente a los animales, determinadas sustancias como es el caso de los terpenoides, desempeñan una función mixta por cuanto que tienen propiedades atrayentes o disuasorias de insectos o herbívoros, o actúan como factor de supervivencia en las plantas xerofíticas. A pesar de que los cambios morfológicos son los hechos más patentes y mejor estudiados, recientemente se está profundizando en el estudio conjunto de los distintos tipos de adaptaciones anatómicas, fisiológicas y bioquímicas. Dentro de la fitoquímica, el estudio de la variabilidad en la composición cualitativa y cuantitativa de los aceites esenciales de las plantas aromáticas como respuesta adaptativa a las condiciones ambientales, está adquiriendo una importancia relevante. Además, el análisis del aceite esencial de las distintas especies dentro de un mismo género es una herramienta complementaria al sistema taxonómico allí donde existen discrepancias según distintos autores.

En este estudio se pretenden aportar datos fitoquímicos que contribuyan a dilucidar problemas taxonómicos del género *Satureja* L. en la Península Ibérica, su relación con los factores ecológicos y determinar algunas de sus aplicaciones como la actividad herbicida, fungicida y antioxidante de sus aceites esenciales.

Para ello, entre junio de 2009 y marzo de 2010 se tomaron muestras del material vegetal correspondientes a nueve poblaciones representativas del área biogeográfica de *Satureja* L. en la Comunidad Valenciana. Dicho muestreo se realizó en cada una de las cuatro estaciones del año, dado el marcado carácter estacional del clima Mediterráneo.

Se recolectó material vegetal fresco y, previo estudio morfológico de las especies, se procedió a la obtención del aceite esencial mediante hidroddestilación con un aparato tipo Clevenger, durante tres horas. La fracción volátil se analizó por CG y CG-EM. La identificación de los diferentes compuestos se obtuvo a través de su tiempo de retención, índice de Kovats y espectro de masas. Se analizaron las principales características edáficas y climáticas para cada localidad con el fin de determinar su posible relación con la composición del aceite esencial de las poblaciones en estudio. Una vez identificados los componentes del aceite esencial y determinados los factores ecológicos en los diferentes lugares de muestreo, se realizó un análisis estadístico de los resultados, para determinar las posibles diferencias o relaciones entre los mismos y su contribución a la ecología química del matorral mediterráneo.

Los resultados de la morfología de las especies estudiadas apoyan la taxonomía propuesta en Flora Ibérica (2010), que distingue cuatro especies perennes en la Península Ibérica: *S. montana* L., *S. innota* (Pau) G. López, *S. cuneifolia* Ten. y *S. intricata* Lange. Las dos poblaciones estudiadas de *S. montana* contienen carvacrol, seguido de sus precursores biogenéticos *p*-cimeno y γ -terpineno como componentes principales. La especie *S. innota* elabora un aceite esencial rico en linalool o geraniol en función del lugar de procedencia. Las especies *S. cuneifolia* y *S. intricata* contienen el monoterpeno oxigenado alcanfor como

mayoritario en su aceite esencial, diferenciándose ambas en la cantidad de dicho monoterpeno oxigenado. La variación estacional de los aceites esenciales vino marcada fundamentalmente por la temperatura en todos los casos, variando notablemente a lo largo del año el aceite esencial de las especies ubicadas en localidades con una climatología más severa.

Se realizaron ensayos de actividad herbicida, fungicida y capacidad antioxidante con los aceites esenciales que mostraron una composición química diferente, escogiéndose un aceite esencial de *S. montana*, *S. cuneifolia* y *S. intricata* y dos de *S. innota*.

La actividad herbicida se realizó sobre las arvenses *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. y *Conyza canadensis* (L.) Cronq., muy problemáticas y extendidas en numerosos cultivos. Se realizaron ensayos *in vitro*, en cámaras de germinación para evaluar los efectos de los distintos aceites esenciales sobre la germinación y el crecimiento de dichas arvenses. La actividad fitotóxica del aceite esencial vino marcada en función de la arvense frente a la que actúan, así como la composición y concentración a la que se ensayaron los aceites esenciales. En este sentido, el aceite esencial de *S. montana*, rico en carvacrol fue el más efectivo sobre *P. oleracea* y *C. canadensis* mientras que los aceites esenciales de *S. innota* (Sueras) y *S. intricata*, con geraniol y alcanfor respectivamente como monoterpenos oxigenados mayoritarios, han sido los más efectivos sobre *A. hybridus*. A nivel de arvenses, *A. hybridus* ha sido la especie más sensible al tratamiento con aceites esenciales de *Satureja* L. y *P. oleracea* la más resistente.

Para la determinación de la actividad fungicida *in vitro* se ensayaron once aislados seleccionados en función de su diferente ubicación taxonómica y modo de actuación. Los aislados incluían tres especies del Reino Chromista (Oomycota): *Phytophthora citrophthora* (R.E. & E.H. Sm.) Leonian, *P. palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler y *Pythium litorale* Nechw., y ocho del Reino Fungi (hongos verdaderos): *Verticillium dahliae* Kleb., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Penicillium hirsutum* Dierckx, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc., *Phaeoacremonium aleophilum* W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai, *Phaemoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams, *Cylindrocarpon liriodendri* J.D. Macdon. & E.E. Butler y *Cylindrocarpon macrodidymum* Schroers, Halleen & Crous. Se realizaron pruebas *in vitro* de ensayo de crecimiento miceliar, resultando el aceite esencial de *S. montana* (carvacrol) el más efectivo, mientras que el resto de aceites esenciales presentaron mayor selectividad. En cuanto a los aislados, *P. palmivora* fue el aislado más sensible de todos los ensayados, seguido de *P. citrophthora* y *Pa. chlamydospora*, mientras que los hongos *C. gloeosporioides*, *R. solani*, *Pe. hirsutum*, *Py. litorale* y *V. dahliae* fueron los más resistentes al tratamiento con los distintos aceites esenciales, mostrando únicamente inhibición con el aceite esencial de *S. montana*.

La selectividad obtenida en la actividad herbicida y fungicida en función de la composición del aceite esencial y el aislado sobre el que se aplica podría resultar interesante para su utilización como herbicidas o fungicidas naturales selectivos en protección de cultivos.

Por último, el aceite esencial de *S. montana* fue el que mostró mayor actividad antioxidante. Dicho aceite esencial podría ser un antioxidante natural por su alto contenido fenólico y ser utilizado como conservante alimentario.

ABSTRACT

Unlike primary metabolites, which are essential for plant development and growth, the secondary metabolites perform special functions such as attracting pollinators, protecting plants against biological enemies and other forms of resistance to adverse factors. Although most of these natural products are involved in the interaction and plant defense against animals, certain substances such as terpenoids, play a mix role because they have attractants or deterrent properties over insects or herbivores, or act as a survival factor in xerophytic plants. Despite that morphological changes are the most apparent and best studied facts, recently is deepening in the joint study of different kinds of anatomical, physiological and biochemical adaptative characteristics. Within phytochemistry, the study of the variability in the qualitative and quantitative composition of essential oils from aromatic plants as an adaptive response to environmental conditions, is gaining significant importance. Furthermore, the analysis of the essential oil of different species within the same genus is a complementary tool to the taxonomic system where there are discrepancies depending on the author.

The aim of this work is to provide phytochemical data to elucidate taxonomic problems within *Satureja* L. genus in the Iberian Peninsula, its relationship with ecological factors and to determine biological applications of their essential oils as herbicide, fungicide and antioxidant.

For this, between June 2009 and March 2010, plant material of nine biogeographical area representative populations of *Satureja* L. in Valencia was collected. This sampling was conducted in each of the four seasons, due to the seasonality of the Mediterranean climate.

Fresh plant material was collected and, after a morphological study of the species, we proceeded to the obtention of essential oil by hydrodistillation with a Clevenger type apparatus for three hours. The volatile fraction was analyzed by GC and GC-MS. Identification of different compounds was obtained through its retention time, Kovats index and mass spectra.

The major soil and climatic characteristics for each location were analyzed in order to determine their possible relation with the essential oil composition of the studied populations. Once identified the essential oil components and determined certain ecological factors in the different sampling sites, a statistical analysis of the results was performed to determine possible differences or relationships between them and their contribution to the chemical ecology of the Mediterranean scrub.

Morphology results of the species studied support the taxonomy proposed by Flora Ibérica (2010), which identifies four perennial species in the Iberian Peninsula: *S. montana* L., *S. innota* (Pau) G. Lopez, *S. cuneifolia* Ten. and *S. intricata* Lange. Both populations of *S. montana* contain an essential oil rich in carvacrol followed by its biogenetic precursors *p*-cymene and γ -terpinene. *S. innota* species elaborate an essential oil rich in linalool or geraniol according to the place of origin. Both *S. cuneifolia* and *S. intricata* species had the oxygenated monoterpene camphor as the major compound of their essential oil, differing both in the amount of this oxygenated monoterpene. Seasonal variation of the essential oils

was mainly related to the temperature in all cases, varying significantly along the year the essential oil of the species located in places with more severe weather.

Herbicide, fungicide and antioxidant capacity assays were performed with essential oils that showed a different chemical composition, choosing a single essential oil of *S. montana*, *S. cuneifolia* and *S. intricata* and both essential oils of *S. innota*.

Herbicidal activity was performed on *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. and *Conyza canadensis* (L.) Cronq. weeds, problematic and prevalent in many cultures. *In vitro* assays were performed in germination chambers to assess the effects of the essential oils on the germination and growth of the weeds. Phytotoxic activity of the essential oil depends on the weed, chemical composition and concentration of the essential oils applied. In this way, the essential oil of *S. montana*, rich in carvacrol, was the most effective against *P. oleracea* and *C. canadensis* while *S. innota* (Sueras) and *S. intricata* essential oils, with geraniol and camphor respectively as the main oxygenated monoterpenes, were most effective on *A. hybridus*. This weed was the most sensitive to treatment with essential oils of *Satureja* L. and *P. oleracea* the most resistant.

For *in vitro* fungicide assays, eleven isolates were tested according to its different taxonomical position and its mode of action. The isolates included three species of the Kingdom Chromista (Oomycota): *Phytophthora citrophthora* (R.E. & E.H. Sm.) Leonian, *P. palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler and *Pythium litorale* Nechw., and eight of the Kingdom Fungi (true fungi): *Verticillium dahliae* Kleb., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Penicillium hirsutum* Dierckx, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc., *Phaeoacremonium aleophilum* W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai, *Phaemoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams, *Cylindrocarpon liriodendri* J.D. Macdon. & E.E. Butler and *Cylindrocarpon macrodidymum* Schroers, Halleen & Crous. In the *in vitro* mycelial growth assay, *S. montana* essential oil (carvacrol) was the most effective, while the other essential oils had greater selectivity. *P. palmivora* was the most sensitive isolated of all tested, followed by *P. citrophthora* and *Pa. chlamydospora*, whereas *C. gloeosporioides*, *R. solani*, *Pe. hirsutum*, *Py. litorale* and *V. dahliae* were the most resistant to treatment with the different *Satureja* essential oils assayed, showing only inhibition with *S. montana* essential oil.

The obtained herbicide and fungicide selectivity depending on the composition of the essential oil and the isolated or weed on applying it might be interesting in order to use them as selective natural herbicides or fungicides in crop protection.

Finally, *S. montana* essential oil showed the highest antioxidant activity. This essential oil may be used as a natural antioxidant due to its high phenolic content and could be used as a food preservative.

RESUM

A diferència dels metabòlits primaris, indispensables per al desenvolupament i creixement de les plantes, els metabolites secundaris fan funcions especials com atreure pol·linitzadors, protegir les plantes contra enemics biològics i altres formes de resistència front a factors adversos. Encara que la majoria d'aquests productes naturals intervenen en la interacció i defensa de les plantes enfront dels animals, determinades substàncies com és el cas dels terpenoides, exerceixen una funció mixta ja que tenen propietats atractives o dissuasòries d'insectes o herbívors, o actuen com a factor de supervivència en les plantes xerofítiques. Tot i que els canvis morfològics són els fets més patents i millor estudiats, recentment s'està aprofundint en l'estudi conjunt dels diferents tipus d'adaptacions anatòmiques, fisiològiques i bioquímiques. Dins de la fitoquímica, l'estudi de la variabilitat en la composició qualitativa i quantitativa dels olis essencials de les plantes aromàtiques com a resposta d'adaptació a les condicions ambientals, està adquirint una importància rellevant. A més, l'anàlisi de l'oli essencial de les diferents espècies dins d'un mateix gènere és una eina complementària al sistema taxonòmic allà on hi ha discrepàncies segons diferents autors.

En aquest estudi es volen aportar dades fitoquímiques que contribueixen a dilucidar problemes taxonòmics del gènere *Satureja* L. a la Península Ibèrica, la seua relació amb els factors ecològics i determinar algunes de les seues aplicacions com l'activitat herbicida, fungicida i antioxidant dels seus olis essencials.

Per això, entre juny de 2009 i març de 2010 es van prendre mostres del material vegetal corresponents a nou poblacions representatives de l'àrea biogeogràfica de *Satureja* L. a la Comunitat Valenciana. Aquest mostreig es va realitzar en cadascuna de les quatre estacions de l'any, donat el marcat caràcter estacional del clima Mediterrani.

Es va recol·lectar material vegetal fresc i, previ estudi morfològic de les espècies, es va procedir a l'obtenció de l'oli essencial mitjançant destil·lació per arrossegament de vapor amb un aparell tipus Clevenger, durant tres hores. La fracció volàtil es va analitzar per CG i CG-EM. La identificació dels diferents components es va obtenir a través del seu temps de retenció, índex de Kovats i espectre de masses.

Es van analitzar les principals característiques edàfiques i climàtiques per a cada localitat per tal de determinar la seua possible relació amb la composició de l'oli essencial de les poblacions en estudi. Una vegada identificats els components de l'oli essencial i determinats els factors ecològics en els diferents llocs de mostreig, es va realitzar una anàlisi estadística dels resultats, per determinar les possibles diferències o relacions entre aquests i la seua contribució a l'ecologia química del matoll mediterrani.

Els resultats de la morfologia de les espècies estudiades donen suport a la taxonomia proposada per Flora Ibèrica (2010), que distingeix quatre espècies perennes a la Península Ibèrica: *S. montana* L., *S. innota* (Pau) G. López, *S. cuneifolia* Tingues. i *S. intricata* Lange. Les dues poblacions estudiades de *S. montana* presenten un oli essencial amb carvacrol, seguit dels seus precursors biogenètics p-cimè i γ -terpinè com a components principals. L'espècie *S. innota* elabora un oli essencial ric en linalol o geraniol dependent del lloc de procedència. Les espècies *S. cuneifolia* i *S. intricata* van tenir al compost monoterpèno

oxigenat càmfora com majoritari en el seu oli essencial, diferenciant ambdues en la quantitat d'aquest monoterpen oxigenat. La variació estacional dels olis essencials va venir marcada fonamentalment per la temperatura en tots els casos, variant notablement al llarg de l'any l'oli essencial de les espècies ubicades en localitats amb una climatologia més severa.

Es van realitzar assaigs d'activitat herbicida, fungicida i capacitat antioxidant amb els olis essencials que van mostrar una composició química diferent, escollint un oli essencial de *S. montana*, *S. cuneifolia* i *S. intricata* i els dos olis essencials de *S. innota*.

L'activitat herbicida es va realitzar sobre les males herbes *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. i *Conyza canadensis* (L.) Cronq., molt problemàtiques i esteses en nombrosos cultius. Es van realitzar assajos *in vitro*, en cambres de germinació per avaluar els efectes dels diferents olis essencials sobre la germinació i el creixement de les males herbes. L'activitat fitotòxica de l'oli essencial va estar marcada en funció de la mala herba davant la qual actuen, així com la composició i concentració a la qual es van assajar els olis essencials. En aquest sentit, l'oli essencial de *S. montana*, ric en carvacrol va ser el més efectiu sobre *P. oleracea* i *C. canadensis* mentre que els olis essencials de *S. innota* (Sue-ras) i *S. intricata*, amb geraniol i càmfora respectivament com monoterpens oxigenats majoritaris, van ser els més efectius sobre *A. hybridus*. A nivell de males herbes, *A. hybridus* ha sigut l'espècie més sensible al tractament amb oli essencial de *Satureja* L. i *P. oleracea* la més resistent.

Per determinar l'activitat fungicida *in vitro* es van assajar 11 aïllats seleccionats en funció de la seua diferent ubicació taxonòmica i manera d'actuació. Els aïllats incloïen tres espècies del Regne Chromista (Oomycota): *Phytophthora citrophthora* (R.E. & E.H. Sm.) Leonian, *P. palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler i *Pythium litorale* Nechw., i uit del Regne Fungi (fongs veritables): *Verticillium dahliae* Kleb., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Penicillium hirsutum* Dierckx, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc., *Phaeoacremonium aleophilum* W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai, *Phaemoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams, *Cylindrocarpon liriodendri* J.D. Macdon. & E.E. Butler i *Cylindrocarpon macrodidymum* Schroers, Halleen & Crous. Es van realitzar proves *in vitro* d'assaig de creixement miceliar, resultant l'oli essencial de *S. montana* (carvacrol) el més efectiu, mentre que la resta d'olis essencials presentaren major selectivitat. En quant als aïllats, *P. palmivora* va ser l'aïllat més sensible de tots els assajats, seguit de *P. citrophthora* i *Pa. chlamydospora*, mentre que els fongs *C. gloeosporioides*, *R. solani*, *Pe. hirsutum*, *Py. litorale* i *V. dahliae* van ser els més resistents al tractament amb els diferents olis essencials, mostrant únicament inhibició amb l'oli essencial de *S. montana*.

La selectivitat obtinguda en l'activitat herbicida i fungicida en funció de la composició de l'oli essencial, mala herba i l'aïllat sobre el qual s'aplica podria resultar interessant per a la utilització com herbicides o fungicides naturals selectius en protecció de cultius.

Finalment, l'oli essencial de *S. montana* ha sigut el de major activitat antioxidant. Aquest oli essencial podria ser utilitzat pel seu alt contingut fenòlic com un antioxidant natural i ser empleat com a conservant alimentari.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	3
2.- ANTECEDENTES	17
2.1. El género <i>Satureja</i> L.	17
2.1.1. Corología y ecología	22
2.2. Composición química del género <i>Satureja</i> L.	23
2.3. Factores que condicionan la composición de aceites esenciales	24
2.4. Usos y aplicaciones del aceite esencial de <i>Satureja</i> L.	26
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	35
3.1. Procedencia del material vegetal	35
3.2. Morfometría	36
3.2.1. Caracteres morfológicos	36
3.2.2. Ordenación de datos y proceso numérico	36
3.3. El medio físico	37
3.3.1. Estudio edáfico: procedimiento analítico	37
3.3.1.1. Textura	38
3.3.1.2. Carbonato cálcico equivalente	38
3.3.1.3. Carbonato cálcico activo	38
3.3.1.4. Materia orgánica	38
3.3.1.5. Capacidad de campo	39
3.3.1.6. Determinaciones en el extracto de pasta saturada	39
3.3.1.7. pH	39
3.3.1.8. Conductividad	39
3.3.2. Caracterización bioclimática	40
3.3.2.1. Red de estaciones y muestreo de datos	43
3.4. Fitoquímica	43
3.4.1. Material vegetal	43
3.4.2. Obtención del aceite esencial. Determinación de rendimientos	43
3.4.3. Análisis del aceite esencial mediante cromatografía de gases	44

3.4.4. Análisis del aceite esencial mediante cromatografía de gases / espectrometría de masas	46
3.4.5. Procesado de datos	46
3.5. Actividad del aceite esencial	47
3.5.1. Obtención de aceites esenciales	47
3.5.2. Actividad fitotóxica	48
3.5.2.1. Arvenses	48
3.5.2.2. Evaluación del potencial de inhibición de la germinación y el crecimiento	48
3.5.2.3. Tratamiento y análisis estadístico de datos	50
3.5.3. Actividad fungicida	50
3.5.3.1. Cultivos fúngicos	50
3.5.3.2. Ensayo de crecimiento micelial	52
3.5.3.3. Siembra de placas	52
3.5.3.4. Evaluación	53
3.5.3.5. Análisis de los resultados	53
3.5.4. Capacidad antioxidante y determinación de compuestos fenólicos totales	54
3.5.4.1. Capacidad antioxidante	54
3.5.4.2. Compuestos fenólicos totales	54
3.5.4.3. Análisis estadístico	55
4.-RESULTADOS	59
4.1. Jerarquización de los caracteres morfológicos en la sistemática del género <i>Satureja</i> L.	59
4.2. El medio físico	62
4.2.1. Características edáficas	62
4.2.2. Caracterización climática	66
4.3. Fitoquímica	71
4.3.1. Rendimiento en aceite esencial	71
4.3.2. Caracterización cuantitativa y cualitativa de los aceites esenciales	73
4.3.2.1. Aceite esencial de <i>S. montana</i> L.	73
4.3.2.2. Aceite esencial de <i>S. cuneifolia</i> Ten.	81
4.3.2.3. Aceite esencial de <i>S. innota</i> (Pau) G. López.	85
4.3.2.4. Aceite esencial de <i>S. intricata</i> Lange.	92
4.3.3. Afinidades fitoquímicas y factores determinantes	106
4.4. Actividad del aceite esencial	112

4.4.1. Composición del aceite esencial	112
4.4.2. Actividad fitotóxica <i>in vitro</i> de los aceites esenciales	115
4.4.2.1. <i>S. montana</i> L.	115
4.4.2.2. <i>S. cuneifolia</i> Ten.	117
4.4.2.3. <i>S. innota</i> (Pau) G. López	118
4.4.2.4. <i>S. intricata</i> Lange	123
4.4.2.5. Carvacrol.	126
4.4.3. Actividad fungicida <i>in vitro</i> de los aceites esenciales	127
4.4.3.1. <i>S. montana</i> L.	127
4.4.3.2. <i>S. cuneifolia</i> Ten.	128
4.4.3.3. <i>S. innota</i> (Pau) G. López	130
4.4.3.4. <i>S. intricata</i> Lange	133
4.4.3.5. Determinación de la DE ₅₀	134
4.4.4. Capacidad antioxidante y determinación de los compuestos fenólicos totales	137
4.4.4.1. Capacidad antioxidante.	137
4.4.4.2. Compuestos fenólicos totales.	137
5.-DISCUSIÓN	141
6.-CONCLUSIONES	161
7.-BIBLIOGRAFÍA	167
ANEXO. TABLAS PARA LA CARACTERIZACIÓN BIOCLIMÁTICA	189

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Relación y localización de las poblaciones estudiadas	35
Tabla 2. Red de estaciones y muestreo de datos	43
Tabla 3. Aislados fúngicos utilizados en los ensayos	51
Tabla 4. Valores promedio de los datos morfométricos de <i>Satureja</i> L.	60
Tabla 5. Determinaciones físico-químicas realizadas en los sustratos en los que crece <i>Satureja</i> L.	65
Tabla 6. Índices bioclimáticos.	66
Tabla 7. Rendimiento (referido a peso de planta fresca) de los aceites esenciales correspondientes a todas las poblaciones estudiadas.	72
Tabla 8. Variación en la composición del aceite esencial de <i>S. montana</i> en las localidades de Culla y Peñagolosa	74
Tabla 9. Variación en la composición del aceite esencial de <i>S. cuneifolia</i> en la localidad de Cullera	82
Tabla 10. Variación en la composición del aceite esencial de <i>S. innota</i> en las localidades de Culla y Sueras	86
Tabla 11. Variación en la composición del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en las localidades de Chiva	96
Tabla 12. Variación en la composición del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en las localidades de Navalón	103
Tabla 13. Compuestos característicos de los aceites esenciales de las especies de <i>Satureja</i> L. estudiadas	109
Tabla 14. Composición de los aceites esenciales utilizados en los ensayos de actividad	113
Tabla 15. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>S. montana</i>	116
Tabla 16. Efecto del aceite esencial de <i>S. montana</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i>	116
Tabla 17. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>S. cuneifolia</i>	117
Tabla 18. Efecto del aceite esencial de <i>S. cuneifolia</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i>	118
Tabla 19. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 1)	119
Tabla 20. Efecto del aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 1) sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i>	120

Tabla 21. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 2)	121
Tabla 22. Efecto del aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 2) sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i>	122
Tabla 23. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>S. intricata</i>	124
Tabla 24. Efecto del aceite esencial de <i>S. intricata</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i>	124
Tabla 25. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con carvacrol	126
Tabla 26. Efecto del carvacrol sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i>	126
Tabla 27. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de <i>S. montana</i> (MONT 1) respecto al control con etanol	127
Tabla 28. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de <i>S. cuneifolia</i> respecto al control con etanol	129
Tabla 29. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 1) respecto al control con etanol	130
Tabla 30. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 2) respecto al control con etanol	132
Tabla 31. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de <i>S. intricata</i> respecto al control con etanol	133
Tabla 32. Valores de la DE50 $\mu\text{L/L}$ (ppm) de crecimiento miceliar de cada aceite esencial para los diferentes aislados	135
Tabla 33. Capacidad antioxidante (FRAP) de los aceites esenciales de <i>Satureja</i> L.	137
Tabla 34. Compuestos fenólicos totales de los aceites esenciales de <i>Satureja</i> L.	138
Tabla 35. Estación microclimática de Barranco de Culla.	189
Tabla 36. Estación microclimática de San Juan de Peñagolosa.	189
Tabla 37. Estación microclimática de Culla.	190
Tabla 38. Estación microclimática de Chiva.	190
Tabla 39. Estación meteorológica Vistabella.	191
Tabla 40. Estación meteorológica Segorbe.	191
Tabla 41. Estación meteorológica Cullera.	192

Tabla 42. Estación meteorológica Siete Aguas.	192
Tabla 43. Estación meteorológica Enguera.	193

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>S. montana</i> L.	20
Figura 2. <i>S. montana</i> L. Detalle de la hoja	20
Figura 3. <i>S. innota</i> (Pau) G. López	20
Figura 4. <i>S. innota</i> (Pau) G. López. Detalle de la flor	20
Figura 5. <i>S. cuneifolia</i> Ten.	21
Figura 6. <i>S. cuneifolia</i> Ten. Detalle de la flor	21
Figura 7. <i>S. intricata</i> Lange.	21
Figura 8. <i>S. intricata</i> Lange. Detalle de la flor	21
Figura 9. Medición de hojas y pelos de las hojas	37
Figura 10. Medición de cáliz y dientes del cáliz	37
Figura 11. A: Toma de muestras; B: calcímetro de Bernard. Deteminación de carbonato cálcico equivalente; C: determinación de la textura del suelo; D: plataforma giratoria. Determinación de carbonato cálcico activo; E: Determinación cuantitativa de la materia orgánica de un suelo; F: Filtración al vacío del extracto de pasta saturada. Determinación de microelementos; G: Determinación de la capacidad de campo de un suelo; H: Determinación de pH y conductividad.	40
Figura 12. Estación microclimática Hobo Pro v2	41
Figura 13. Colocación de estación microclimática	41
Figura 14. Clevenger	44
Figura 15. Extractor Albrigi	48
Figura 16. Siembra de semillas	49
Figura 17. Adición del aceite esencial	49
Figura 18. Extracción de un disco de la colonia del hongo	52
Figura 19. Inoculación en placa tratada	52
Figura 20. Diagrama de las funciones discriminantes. Taxonomía	62
Figura 21. Diagrama bioclimático Vistabella	69
Figura 22. Diagrama bioclimático Cullera	69
Figura 23. Diagrama bioclimático Segorbe	69
Figura 24. Diagrama bioclimático Siete Aguas	69

Figura 25. Diagrama bioclimático Enguera	70
Figura 26. Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de <i>S. montana</i> en la localidad MONT 1	78
Figura 27. Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>S. montana</i> en la localidad MONT 1	78
Figura 28. Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de <i>S. montana</i> en la localidad MONT 2	79
Figura 29. Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>S. montana</i> en la localidad MONT 2	80
Figura 30. Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de <i>S. cuneifolia</i>	84
Figura 31. Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>S. cuneifolia</i>	84
Figura 32. Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de <i>S. innota</i> en la localidad INNO 1	89
Figura 33. Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>S. innota</i> en la localidad INNO 1	89
Figura 34. Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de <i>S. innota</i> en la localidad INNO 2	91
Figura 35. Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>S. innota</i> en la localidad INNO 2	91
Figura 36. Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en la localidad INTR 1	93
Figura 37. Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en la localidad INTR 1	93
Figura 38. Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en la localidad INTR 2	95
Figura 39. Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en la localidad INTR 2	95
Figura 40. Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en la localidad INTR 3	100
Figura 41. Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en la localidad INTR 3	100
Figura 42. Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en la localidad INTR 4	102

Figura 43. Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>S. intricata</i> en la localidad INTR 4	102
Figura 44. Análisis de correspondencias canónico entre los compuestos y factores ecológicos	110
Figura 45. Distribución de las muestras analizadas sobre el plano de las dos primeras funciones discriminantes	111
Figura 46. Efecto del aceite esencial de <i>S. cuneifolia</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i>	118
Figura 47. Efecto del aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 1) sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i>	120
Figura 48. Efecto del aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 2) sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i>	122
Figura 49. Efecto del aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 2) sobre el crecimiento de plántulas de <i>C. canadensis</i>	123
Figura 50. Efecto del aceite esencial de <i>S. intricata</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i>	125
Figura 51. Efecto del aceite esencial de <i>S. intricata</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>C. canadensis</i>	125
Figura 52. Reducción del crecimiento miceliar de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de <i>S. montana</i>	128
Figura 53. Reducción del crecimiento miceliar de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de <i>S. cuneifolia</i>	129
Figura 54. Reducción del crecimiento miceliar de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 1)	131
Figura 55. Reducción del crecimiento miceliar de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de <i>S. innota</i> (INNO 2)	132
Figura 56. Reducción del crecimiento miceliar de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de <i>S. intricata</i>	134
Figura 57. Rectas de regresión lineal para algunos de los aceites esenciales	136

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Las plantas aromáticas y medicinales han sido utilizadas por el hombre desde la antigüedad. Su recolección, cultivo y utilización han estado ligados históricamente a circunstancias sociales, religiosas, esotéricas y terapéuticas entre otras. Desde muy antiguo, las necesidades de chamanes, druidas, sanadores y curanderos de toda clase eran abastecidas por la recolección directa de plantas silvestres.

El testimonio más antiguo del uso de las plantas por razones no alimentarias se encontró en una excavación en Shanidar, Irak que data alrededor de 60.000 años. El conocimiento de las plantas era extenso en las civilizaciones antiguas y su utilización formaba la base médica hasta el siglo XIX (De la Torre Carreras y López González, 2010).

En España existen más de 8000 especies vegetales, de las que al menos el 20% tienen o han tenido utilización medicinal (Lamarck, 1996). La gran variedad de condiciones medioambientales (clima, suelos...) y drásticas condiciones en determinadas estaciones que se pueden hallar en la Península Ibérica, conlleva a que las plantas aromáticas y medicinales elaboren una gran diversidad de principios activos, entre ellos sustancias volátiles o aceites esenciales. Esta enorme riqueza merece un gran interés desde el punto de vista de su conservación, recuperación y mejora de estas especies vegetales.

En la actualidad se siguen utilizando estas plantas tanto de manera directa (en fresco, desecadas, congeladas, deshidratadas o conservadas de cualquier otra forma) como indirecta, para la extracción de sus principios activos. El interés económico de las especies aromáticas reside principalmente en la obtención de sus esencias, ampliamente utilizadas por la industria farmacéutica, alimentaria, cosmética, perfumes... y, por tanto, aprovechables por el ser humano (Alcaraz Ariza *et al.*, 1989), pudiendo tener otros usos en jardinería, melíferas, cría de caracoles, etc.

De ahí que el mercado se haga cada vez más exigente y demande mayor cantidad y calidad de producto, condiciones que han incidido sobre las poblaciones espontáneas. Por otra parte, actualmente se está extendiendo su uso como aditivo natural en los llamados productos biológicos, verdes, naturales, ecológicos, etc. a medida que estas categorías de alimentos se vuelven necesarios para algunos sectores sociales.

El mercado internacional de plantas aromáticas y medicinales en todos los campos (excluidos los de soja, algas y fibra), actualmente mueve cerca de 83.000 millones de dólares (Gruenwald, 2010). Dependiendo del segmento, el crecimiento es constante y oscila entre 3% y el 12% anual. La relación entre los distintos sectores que agrupan a estas plantas aromáticas y medicinales hace difícil realizar una separación entre ellos, pues a menudo ocurre que materias primas de especies determinadas, son utilizadas en diferentes áreas de mercado.

Las plantas aromáticas representan un sector estratégico de alto interés agronómico dentro de la Comunidad Valenciana (Ruano Martínez *et al.*, 1998). Esto es debido a que las especies cultivadas son estrictamente mediterráneas, en algunos casos endemismos propios de la zona, cuyo cultivo en otros bioclimas resulta imposible, demasiado costoso o desvirtúa la calidad final del producto. Desde el punto de vista medioambiental son cultivos altamente respetuosos con el medio ambiente debido a la baja necesidad de utilización de productos fitosanitarios y abonos (Mateo Box, 1994).

En la Comunidad Valenciana, las plantas aromáticas y medicinales se producen habitualmente en zonas de interior montañosas y con una orografía más bien compleja, donde las alternativas de cultivo son escasas. Los núcleos de población en estas zonas, de marcado carácter rural, se hallan dispersos y, en general, mal comunicados entre sí con los principales centros urbanos, industriales y comerciales.

La población en estos lugares, tradicionalmente dedicada a la agricultura, compite en desventaja con la producción agrícola intensiva de otras áreas (zonas de regadío, zonas litorales, productos importados, etc). Además, enormes extensiones montañosas son destruidas en los últimos años por incendios forestales provocando una degradación importante del entorno y afectando a la actividad rural y agraria. En consecuencia, y ante la falta de otras alternativas, la población ha tenido que emigrar a los grandes núcleos urbanos del litoral provocando un despoblamiento acusado y preocupante en el interior. A los principales problemas de estas localidades hay que añadir un reducido peso político de las mismas, lo que a su vez conduce a que se preste poca atención a estas zonas.

Este abandono de la actividad rural ha traído consigo numerosos problemas. Cabe citar, entre otros:

- La falta de limpieza de los bosques de la Comunidad Valenciana, facilitando la incidencia y mayor gravedad de los incendios forestales.
- La no restauración de muros y paredes de las zonas de cultivos abandonadas dando lugar a una mayor incidencia de la erosión, fundamentalmente hídrica.
- La pérdida de material genético, tanto vegetal como animal, por el abandono de una amplia gama de variedades autóctonas de numerosas especies.
- La pérdida de numerosos bienes culturales.

Actualmente y durante muchos años están surgiendo numerosas propuestas de recuperación de la actividad en las zonas rurales. Entre ellas destaca la presentación de alternativas a los cultivos agrarios, como por ejemplo las plantas aromáticas. En el ámbito de la producción relacionada con las plantas aromáticas y medicinales, se puede agrupar el mercado en cuatro grandes sectores, dependiendo de los productos derivados de ellas:

- Hierbas y especias
- Aceites esenciales
- Extractos
- Productos aislados de material vegetal

Así, distintos investigadores como Mulet Pascual (1991) o Pellicer Bataller (2005), destacan la importancia de estas especies como alternativas en estas zonas. Sin embargo, a pesar de la incipiente importancia de estos cultivos, el sector no se desarrolla adecuadamente según sus perspectivas de futuro. Por ello se considera necesario concentrar esfuerzos que ayuden al sector a modernizarse, con la introducción de razas y ecotipos que optimicen la calidad de los aceites esenciales.

Desde el punto de vista bioquímico, las plantas producen una amplia gama de metabolitos secundarios que cumplen determinadas funciones ecológicas. Los metabolitos primarios son importantes para el desarrollo de la planta e indispensables para su crecimiento, y se encuentran como productos almacenados en semillas, frutos, tubérculos y otros órganos (grasas, aceites y almidones), consolidando las células y formando parte de la pared primaria (pectinas)... Por otra parte, los metabolitos secundarios llevan a cabo funciones especiales como atraer polinizadores, proteger las plantas

contra enemigos biológicos y otras formas de lucha medioambiental como la sequedad. Estos productos secundarios pueden ser ceras (xerofitismo y defensa), pigmentos (atracción, protección UV), taninos (impermeabilización, defensa), resinas (protección de heridas, defensa), gomas (sellados de heridas), látex (sellados de heridas, defensa), aceites esenciales (atracción de polinizadores, defensa, protección frente al fuego), saponinas (defensa), fitohormonas (atracción de polinizadores, defensa), alcaloides (defensa), etc. Dadas sus características físicas y químicas, estas sustancias han sido utilizadas por el ser humano, proporcionando tintes (pigmentos y naftoquinonas), adhesivos (resinas, látex), impermeabilización (ceras), usos culinarios o médicos (aceites esenciales y alcaloides), venenos (saponinas), control de natalidad o enfermedades (hormonas), etc (Harborne, 1985).

Al igual que las características morfológicas de plantas taxonómicamente cercanas son similares, también lo suelen ser los productos sintetizados. Así por ejemplo especies de la familia *Lamiaceae* como el tomillo (*Thymus vulgaris* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.), albahaca (*Ocimum basilicum* L.), salvia (*Salvia officinalis* L.) y ajedrea (*Satureja montana* L.), elaboran aceites esenciales con un gran contenido en sustancias monoterpénicas.

El estudio de los cambios en la fisiología de las plantas como adaptación a las condiciones ambientales ha sido ampliamente estudiado por diferentes autores (Vicente y Legaz, 2000; Salisbury y Ross, 2000). A pesar de que las transformaciones morfológicas son los hechos más patentes y mejor estudiados, recientemente se está profundizando en el estudio de los distintos tipos de adaptaciones fisiológicas y bioquímicas.

La sequedad es un factor que provoca una importante respuesta en las plantas. Los mecanismos de adaptación frente a la sequedad pueden ser anatómico-morfológicos, creando la planta un sistema radical extenso, reduciendo la superficie foliar o formando grandes parénquimas de reserva. También pueden ser de tipo químico, induciendo la síntesis de ácido abscísico, farnesol y otros terpenos (*Vitis*, *Sorgum*) o regulando la transpiración mediante la acción sobre la presión osmótica, aumentándola mediante la síntesis del aminoácido prolina (gramíneas) o ciclitoles como el pinitol (leguminosas). Otros tipos de respuesta fisiológicas conllevan la utilización de distintas estructuras de las hojas dependiendo del ambiente donde se encuentren, dando lugar a plantas C3, C4 o CAM.

La temperatura influye en el desarrollo de las plantas. La adaptación al frío conlleva generalmente una disminución de la actividad fisiológica. También puede provocar en la planta una acumulación de azúcares como la glucosa, sacarosa o fructosa. Los glicoles (glicol, manitol y glicerol), juegan un papel importante aumentando la presión osmótica y disminuyendo la temperatura de congelación, evitando así la formación de cristales. El aumento de ácidos grasos en plantas del género *Spinacia*, confiere también resistencia al frío. El calor provoca a nivel bioquímico un aumento de termoproteínas especiales con nuevos ARN mensajeros.

La adaptación a la inundación provoca cambios en la respiración, pasando de aerobia a anaerobia. También puede llevar consigo una acumulación de alcohol en los tejidos, llegando a ser peligroso si no se lavan.

En un medio con altas concentraciones salinas una planta requiere adaptación al cambio osmótico y acumulación de solutos con bajo peso molecular y no tóxicos para regular la presión osmótica, como la prolina (aumenta la presión osmótica celular), sorbitol o glicinebetaína.

Frente a depredadores las plantas también presentan diversos tipos de defensa. Se pueden producir cambios en la morfología del vegetal, como la creación de aguijones (*Chorisia speciosa* A. St.-Hil.). A nivel químico, algunas plantas producen compuestos tóxicos y otros que reducen la palatabilidad. La mayoría de los repelentes están localizados en la parte externa de las plantas, siendo los tricomas la primera línea de defensa. Especialmente efectivos son los tricomas glandulares de los pelos urticantes de la ortiga (género *Urtica* L.) que contienen compuestos con acción similar al ácido fórmico de las hormigas. Algunas plantas producen insecticidas naturales tales como el piretro, un producto químico producido por los crisantemos (género *Chrysanthemum* L.). La segunda línea de defensa la forman las ceras y compuestos de la superficie de las hojas. En las hojas de la manzana se produce un recubrimiento que actúa como repelente para áfidos. Algunas gramíneas han evolucionado mediante la esclerificación de la epidermis de las hojas, por este mecanismo presentan pelos en forma de aguijones que le dan aspereza a las hojas y células silíceas que las hacen menos palatables. En ciertas especies hay una combinación de defensas: en especies de la familia *Araceae* (*Dieffenbachia* sp., *Philodendron bipinnatifidum* Schott) se combina la presencia de compuestos como el ácido oxálico en su savia y

células con cristales de oxalato de calcio en forma de aguja denominados rafidios. Cuando los herbívoros mastican estas hojas, los cristales producen pequeñas incisiones por las que entra el ácido al cuerpo del atacante y produce graves irritaciones en las mucosas. Este tóxico se puede obtener también de las almendras amargas, de los carozos de ciruelas y cerezas, o de los tubérculos comestibles de la mandioca. La planta del guisante (*Pisum sativum* L.) produce pisatina, un compuesto fenólico que la protege de la mayor parte de los hongos. Las coníferas presentan canales resiníferos. La resina es una mezcla compleja de sustancias, principalmente terpenos, que reducen la palatabilidad especialmente de las yemas. El látex es otro repelente que algunas estirpes producen en gran cantidad; es una emulsión viscosa, blanquecina, con partículas de gomas, alcaloides, terpenos, etc. en suspensión. En la mayoría de los casos el látex es irritante y de sabor desagradable. Por un lado convierte la savia en una sustancia densa poco aceptable para insectos de aparato bucal chupador o para las hormigas (aparato bucal masticador-lamedor), y por otro lado actúan especialmente en la cicatrización de heridas e impiden el ingreso de microorganismos.

La competencia por el espacio también es otro factor que puede promover cambios en los vegetales (Vicente y Legaz, 2000; Salisbury y Ross, 2000). Los fenómenos alelopáticos son otra forma de manifestarse los metabolitos secundarios para interrumpir y dificultar procesos biológicos de otras plantas. Son muchos los productos con propiedades alelopáticas (Einhellig, 1995), agrupándose en los siguientes grupos: compuestos alifáticos (actividad inhibitoria de la germinación de semillas y el crecimiento de plantas), lactonas no saturadas, lípidos y ácidos grasos (inhibidores del crecimiento vegetal), terpenoides volátiles que son los principales componentes de los aceites esenciales (Fischer, 1986; Muller, 1986; Elakovich, 1988), compuestos aromáticos (fenoles, derivados de ácido benzoico, derivados del ácido cinámico, quinonas, cumarinas, flavonoides y taninos), bases xánticas (cafeína) y alcaloides como cocaína, cinconina, fisostigmina, quinina, cinconidina y estricnina son reconocidos inhibidores de la germinación.

Dentro de la fitoquímica, el estudio de las diferencias cualitativas y cuantitativas en la composición de los aceites esenciales de las plantas aromáticas como respuesta adaptativa a estas condiciones, está adquiriendo una importancia relevante.

El clima mediterráneo puede ser ampliamente definido en términos generales como un clima templado caracterizado por un máximo de lluvia en invierno, seguido de un marcado verano seco e intensa radiación solar especialmente en verano. La época más cálida y apta para el crecimiento de las plantas, verano, coincide con el momento de mayor sequedad. Las escasas lluvias en este período son generalmente torrenciales, favoreciendo uno de los problemas más importantes de la cuenca mediterránea, como es el de la erosión y la desertificación, dejando una pequeña parte de agua disponible para las plantas.

Las plantas se han adaptado al estrés hídrico que se produce durante el período seco tanto con las hojas esclerófilas perennes como con el dimorfismo estacional y procesos bioquímicos.

Las hojas esclerófilas se caracterizan por ser pequeñas y coriáceas. Estas hojas muestran con frecuencia modificaciones anatómicas, incluyendo cutículas gruesas y aislantes. Presentan generalmente un elevado contenido en celulosa y lignina, bajo número de estomas concentrados en el envés y cerrados dentro de pequeñas cavidades de la epidermis, que además se protegen por un filtro de pelos, escamas o ceras epidérmicas.

En muchas plantas leñosas mediterráneas juegan un papel similar las secreciones estivales de ceras o esencias, que tapizan las superficies estomáticas o se volatilizan en relación directa con la temperatura, y crean finas capas hidrófobas de protección. A veces, la hoja se curva y disminuye la exposición de los estomas a la transpiración.

Las plantas que dominan en las formaciones donde las precipitaciones medias anuales oscilan alrededor de 275 mm y tienen una elevada evapotranspiración, presentan además otros tipos de adaptaciones como el dimorfismo estacional. Se entiende por dimorfismo estacional la existencia de dos formas o dos aspectos anatómicos diferentes en una misma especie vegetal de acuerdo con las condiciones ambientales, que se asocia generalmente con una reducción estacional de la superficie transpirante. En algunos casos extremos la planta puede entrar en dormancia vegetativa parcial, volviendo a recuperar la actividad normal con las lluvias.

Otra de las adaptaciones que han desarrollado algunas plantas mediterráneas, entre ellas las plantas aromáticas, es la síntesis de aceites

esenciales. Son muchos los factores que provocan un cambio en la composición de los mismos y que pueden determinar un cambio en las propiedades de estas plantas.

Los aceites esenciales se encuentran, casi exclusivamente, en el grupo de las Espermafitas. Los géneros capaces de elaborar estos principios volátiles se agrupan en unas cincuenta familias, casi todas ellas pertenecientes a los órdenes Magnoliales, Laurales, Rutales, Lamiales y Asterales (Bruneton, 1999).

La síntesis y acumulación de un aceite esencial, generalmente va asociada a la presencia de estructuras histológicas especializadas, localizadas en diferentes tejidos, frecuentemente situados sobre o en la proximidad de la superficie de la planta: células con esencia, pelos secretores estipitados o sésiles y con cabeza pluricelular, bolsas secretoras o canales secretores.

Los aceites esenciales se pueden encontrar en todos los órganos vegetales: flores, hojas y, con menos frecuencia, en raíces, rizomas, cortezas, frutos o semillas.

Los aceites esenciales son mezclas complejas olorosas, que se pueden extraer por destilación en arrastre en corriente de vapor de agua a partir del vegetal o de partes de vegetales, o por expresión del pericarpio fresco del género *Citrus* (Pérez Roger, 2002; Blázquez, 2012). En la obtención de aceites esenciales por destilación se distinguen tres procedimientos diferentes: destilación con agua (hidrodestilación), destilación con agua y vapor (vapor húmedo) y destilación directa con vapor (vapor seco) (Blázquez, 2012). En la hidrodestilación el vegetal o las partes del vegetal están en contacto directo con el agua hirviendo. La destilación con agua y vapor es un método de obtención de aceite esencial en el que la muestra se coloca sobre un fondo perforado que contiene agua. Después de calentar el agua, el vapor saturado fluye a baja presión, penetrando a través del material vegetal y arrastrando los componentes volátiles. La destilación directa con vapor es similar al anterior, pero en el fondo no existe agua. El vapor se obtiene en calderas a presiones más elevadas que la atmosférica. Por otra parte, en los cítricos el aceite esencial se encuentra en glándulas en la superficie del epicarpio de los frutos. El método clásico de obtención de aceites esenciales de cítricos es por prensado (expresión), en el que los frutos se laceran bajo una

corriente de agua para romper las bolsas secretoras antes de ser sometidos a prensado en frío.

Desde el punto de vista físico, los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente y en general su densidad es inferior a la del agua. Son solubles en alcoholes, grasas y en disolventes orgánicos habituales pero muy poco solubles en el agua. Sin embargo, sí son arrastrables por corriente de vapor de agua.

Los aceites esenciales son mezclas complejas y muy variables de constituyentes que pertenecen, de forma casi exclusiva, a dos series caracterizadas por orígenes biogénicos distintos: la serie terpénica y la serie, mucho menos frecuente, de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano (Cseke *et al.*, 2006; Blázquez, 2012). Dentro de la serie terpénica, nos encontramos fundamentalmente con monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}) y diterpenos (C_{20}). La diversidad de estructuras se explica por la gran reactividad de los carbocationes implicados en los procesos biosintéticos. Entre los primeros encontramos estructuras acíclicas (mirceño), monocíclicas (*p*-cimeno), o bicíclicas (pineno). En cuanto a la funcionalidad de las moléculas pueden ser alcoholes (acíclico: linalol; monocíclico: α -terpineol; bicíclico: borneol), aldehídos (generalmente acíclicos: geranial), cetonas (acíclicas: tagetona; monocíclicas: carvona; bicíclicas: alcanfor), ésteres (acíclicos: acetato de linalilo; monocíclicos: acetato de α -terpinilo; bicíclicos: acetato de bornilo), éteres (eucaliptol), peróxidos (ascaridol) y fenoles (timol o carvacrol). Las variaciones estructurales en los sesquiterpenos son de la misma naturaleza que los monoterpenos, con carbohidruros (β -cariofileno, α -humuleno), alcoholes (farnesol, ledol), cetonas (*cis*-longipineno-2,7-diona, germacrona), aldehídos (α y β -sinensal) y ésteres (acetato de elemol), pero con mayor número de posibilidades de ciclación debido a la mayor longitud de la cadena. Por último, respecto a los diterpenos, nos encontramos con hidrocarburos (kaureno, pimaradieno), alcoholes (fitol, esclareol), cetonas (6-cetoferruginol), aldehídos (abietal), ésteres (acetato de ferruginol), etc.

Las plantas medicinales han contribuido desde un punto de vista dietético y medicinal a la calidad de vida de las personas debido a su accesibilidad y asequibilidad. Una gran cantidad de plantas medicinales han sido utilizadas por diferentes culturas en el mundo (Heindrich *et al.*, 2004).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre un 65-80% de la población mundial de países en desarrollo depende esencialmente de plantas para su atención médica primaria debido a la pobreza y falta de acceso a la medicina moderna (Calixto, 2005). La OMS recomienda que se trabaje sobre plantas que presenten una actividad efectiva contra enfermedades como la diabetes, obesidad, pancreatitis, enfermedades inflamatorias, etc. debido a la falta de accesibilidad de medicamentos en gran parte del mundo (Momtaz y Abdollahi, 2010).

Se estima que cerca del 25% de los compuestos activos que existen actualmente en distintas especialidades farmacéuticas fueron identificados primeramente en plantas (Halberstein, 2005). Asimismo, se calcula que unas 20000 plantas han sido utilizadas con fines medicinales, de las cuáles unas 4000 se utilizan comúnmente y de ellas, un 10% son comerciales. Como consecuencia, existe una enorme demanda de productos obtenidos a través de estas especies vegetales tanto para su uso doméstico como para el comercio a nivel local, regional, nacional e internacional, a pesar de que la obtención todavía depende en muchos casos de la recolección en el medio silvestre.

Cerca de 3000 especies vegetales contienen aceites esenciales, de las cuales sólo un 10% son importantes comercialmente. Los aceites esenciales y muchos de sus constituyentes no sólo son utilizados en productos farmacéuticos por sus propiedades terapéuticas sino también en agricultura como fitosanitarios, en la industria alimentaria como conservantes y aditivos para uso animal o humano y en otros campos industriales. En muchos casos sirven como mecanismos de defensa de las plantas frente a microorganismos, insectos y herbívoros (Bakkali *et al.*, 2008).

Las especies de la familia Lamiaceae, a la cual pertenece el género *Satureja*, son comúnmente conocidas como plantas aromáticas debido a su alto contenido en aceites esenciales. La composición de estas mezclas tan complejas, afectadas por múltiples factores, es utilizada con fines quimio-taxonómicos y ecológicos. Desde este punto de vista, se ha discutido la conveniencia o no de tomar como criterio los componentes volátiles de las plantas, debido a la variación que suele presentar su concentración en diferentes poblaciones de la misma especie y, en algunos casos, en individuos distintos de la misma población (Morales, 1986). La concentración de componentes de un aceite esencial en la planta o, mejor aún, la presencia en el aceite de

varios componentes diferentes, aunque afectados por variables del medio (suelo, clima...) o edad de la planta, debe ser producto de su estructura bioquímica y genética, por lo que su conocimiento puede ser de gran ayuda en estudios quimiotaconómicos y ecológicos.

En este estudio se pretenden aportar datos fitoquímicos que contribuyan a dilucidar problemas taxonómicos del género *Satureja* L., su relación con los factores ecológicos y determinar algunas de sus aplicaciones estudiando la actividad herbicida, fungicida y antioxidante de sus aceites esenciales.

Con todo ello, se señalan a continuación los objetivos propuestos en el presente estudio:

- Composición de los aceites esenciales de las especies perennes de *Satureja* L. de la Región Mediterránea de la Península Ibérica.
- Estudio de la variabilidad cualitativa y cuantitativa del aceite esencial para las distintas especies en relación con la estacionalidad propia del clima mediterráneo (variabilidad temporal) y con las características ecológicas del hábitat, en especial bioclima y suelo (variabilidad espacial).
- Aportación de la composición de los aceites esenciales a la tipificación taxonómica del género en el área mediterráneo-occidental (Sector corológico Valenciano – Tarraconense y Setabense).
- Estudio de las propiedades herbicidas, fungicidas y antioxidantes de los aceites esenciales de *Satureja* L.

2. ANTECEDENTES

2.1. El género *Satureja* L.

El género *Satureja* L. pertenece a la familia de las lamiáceas (labiadas), encuadrada taxonómicamente dentro de las angiospermas dicotiledóneas en la división Magnoliophyta, clase Magnoliopsidae, subclase Lamiales (lámidas), orden Lamiales (Lamianas) (Sitte *et al.*, 2004).

Esta familia, que comprende gran número de plantas subfruticasas, propias sobre todo de los países templados y secos (región mediterránea), se reconoce además con facilidad, incluso en estado vegetativo, por sus tallos cuadrangulares, sus hojas opuestas y por el olor aromático (glándulas con aceites esenciales).

Las flores se agrupan de ordinario en verticilastros. El cáliz, gamosépalo y con frecuencia bilabiado, rodea la corola largamente tubulosa, dividida en un labio superior formado por dos pétalos y en otro inferior compuesto por tres. De los cuatro estambres, dos son largos y dos cortos. En las características flores labiadas de las Lamiaceae, el estilo parte de los carpelos y arranca cerca de su base. El ovario, súpero bicarpelar, dividido ya durante la floración en cuatro profundos lóbulos encierra generalmente cuatro semillas en las que el micrópilo y radícula están vueltos hacia abajo.

El género *Satureja* L. es exclusivo de Eurasia. Se distribuye por la región mediterránea, norte de África, Cáucaso y oeste de Asia (Martín Mosquero *et al.*, 2006), e incluye unas 38 especies (López González, 1982) constituyendo muchas de ellas endemismos locales (Todorovic y Stevanovic, 1994).

El nombre genérico, *Satureja*, deriva de la palabra latina *Satura*, que significa salsa o guiso, en alusión al uso culinario de esta planta (Muñoz Centeno, 2003).

Las estirpes del género *Satureja* han planteado tradicionalmente problemas desde el punto de vista taxonómico. Las distintas consideraciones que han tenido diferentes autores sobre su tratamiento, no coincidentes y basados muchas veces en el examen de material insuficiente, se ha traducido en una nomenclatura inestable. Por otra parte, la separación de los distintos taxones nunca ha sido establecida de una manera convincentemente, ni morfológica ni geográficamente, por lo que los errores de determinación en las

ajedreas han sido y continúan siendo crónicos. Una de las aportaciones más importantes al estudio de las saturejas ibéricas que resume los trabajos más notables referentes a su sistemática y relaciones es el realizado por López González (1982).

De acuerdo con este trabajo, *S. hortensis* es sin duda la especie más conocida desde antiguo, hasta el punto que es difícil establecer la fecha en que se tienen las primeras noticias sobre ella. Esto es debido a que se trata de una planta muy reputada como medicinal y cultivada también por su uso como condimento. Junto a ella es reseñada por Teofrasto y Dioscórides (siglos XVI-XVII) una ajedrea silvestre difícil de identificar (probablemente sea *S. montana* L.), que era considerada la forma silvestre de la ajedrea cultivada. Estas dos especies, con sus nombres griegos (*thymbra*) y latino (*satureja*, *cunila*) son recogidas en casi todos los tratados de materia médica desde los romanos (Plinio el Viejo) hasta Linneo (siglo XVIII). Plinio nos habla de la gran diversidad de estas plantas y aplica ya el epíteto *montana* a la ajedrea silvestre atribuyéndole propiedades fabulosas.

En España estas plantas, a las que se las denomina con el nombre vulgar de ajedrea, se dan a conocer principalmente en el Dioscórides (1554), que en sus sucesivas ediciones, constituye la base de estudio durante muchos años para los interesados en esta materia.

Cavanilles, al igual que otros autores anteriores, no distinguió los distintos taxones españoles de este grupo, identificando todas las *Saturejæ* españolas con la ajedrea montana (*S. montana* L.). Fue Lagasca (1816) el primero en reconocer en una planta española algo distinto de la *S. montana* L., describiendo una nueva especie, *S. obovata* Lag. Posteriormente Wilkomm y Lange recogen en “*Prodromus Florae Hispanicae*” (1868) la especie *S. montana* L. con su variedad *prostrata* Boiss. y *S. cuneifolia* Ten., en lugar de la anteriormente descrita *S. obovata*. Igualmente describe *S. spinosa*, aunque poniéndola en duda. Loscos (1886) asimila muy acertadamente algunas poblaciones del sur de Aragón a la *S. intricata* Lange. Completando los taxones conocidos en España, Pau describe en 1916 su *S. intricata* var. *innota* y la *S. obovata* var. *hispalensis* (1922), con lo que se puede decir que se acaban las aportaciones importantes al conocimiento de este grupo de plantas. Para completarlo, Ball y Getliffe vuelven a citar en la Flora Europea (Tutin *et al.*, 1972) *S. cuneifolia* Ten. como planta española, admitiendo al mismo tiempo a *S. obovata* Lag. como especie autónoma. En esta obra se describen las siguientes especies presentes en España: *S. salzmanii* P.W.

Ball, *S. montana* ssp. *montana* L., *S. cuneifolia* Ten., *S. obovata* Lag., *S. intricata* Lange y *S. hortensis* L.

A pesar de estas aportaciones, el género *Satureja* sigue planteando actualmente muchos problemas desde el punto de vista taxonómico. Así numerosas estirpes específicas e infraespecíficas siguen siendo descritas de forma distinta según autores.

Algunos botánicos (Bolòs *et al.*, 2005) consideran dentro del grupo de las saturejas *S. hortensis* L. como hierba anual cultivada como aromática y raramente subespontánea en huertos y lugares pedregosos y la especie *S. montana* L. con cuatro subespecies: *montana*, *innota*, *obovata* y *cuneifolia*. Describen asimismo en este grupo otras especies catalogadas actualmente en otros géneros como *Calamintha*, *Acinos*, *Clinopodium* y *Micromeria*. Flora Ibérica (Flora Iberica, 2010), contemplan este género integrado por cinco especies: *hortensis*, *montana*, *innota*, *cuneifolia* e *intricata*. *S. hortensis* L. es la única que es anual mientras que el resto son plantas perennes. En una primera aproximación a la clasificación del grupo de las saturejas perennes, *S. montana* L. (Figuras 1 y 2) es la única especie que presenta hojas lanceoladas y nudos con fascículos axilares de hojas jóvenes. En esta especie, se describe *S. montana* L. subsp. *montana* como la única subespecie con representación en la Península Ibérica. Siguiendo dicha clasificación, *S. innota* (Pau) G. López (Figuras 3 y 4) es reconocida por tener hojas generalmente alesnadas y pelos antrorsos, mientras que las hojas de *S. cuneifolia* Ten. (Figuras 5 y 6) y *S. intricata* Lange (Figuras 7 y 8) son generalmente obovadas, a veces muy estrechas, glabras, papilosas o pelosas, con la diferencia que la primera presenta hojas enteras y cáliz de 2.5-4.5 mm mientras que la segunda tiene hojas dentadas (a veces con dientes rudimentarios) y el cáliz de 4.5-6 mm.



Figura 1. *S. montana* L.



Figura 2. *S. montana* L.
Detalle de la hoja



Figura 3. *S. innota*
(Pau) G. López



Figura 4. *S. innota* (Pau)
G. López. Detalle de la flor



Figura 5. *S. cuneifolia* Ten.



**Figura 6. *S. cuneifolia* Ten.
Detalle de la flor**



Figura 7. *S. intricata* Lange



**Figura 8. *S. intricata* Lange.
Detalle de la flor**

2.1.1. Corología y ecología

Las especies españolas de ajedrea se distribuyen en la Península Ibérica por el norte y el este y concretamente en la Comunidad Valenciana se encuentra fundamentalmente en comarcas del interior de la provincia de Castellón, llegando hasta la sierra de Enguera como límite meridional (Bolòs *et al.*, 2003). Son en su mayoría especies basófilas, caméfitos calcícolas que viven en terrenos con una fuerte insolación, por lo general sueltos y permeables donde las raíces tienen cierta accesibilidad al agua. Pertenecen a las series de vegetación xerófilas termo y mesomediterráneas.

S. montana subsp. *montana* está adaptada a vivir en zonas montañosas, pudiendo llegar hasta los 2000 m de altitud (Flora Iberica, 2010). Es de todas las especies españolas la que parece manifestar una mayor exigencia en humedad (índice ombrotérmico elevado, Io). Coloniza suelos pedregosos al lado de los acantilados rocosos o grietas de roquedos. Bioclimáticamente, su área de distribución está caracterizada por condiciones templadas o templado-cálidas, pudiendo soportar condiciones más rigurosas, pero siempre en exposiciones soleadas. No obstante, también se extiende a lo largo de los cauces de los ríos donde encuentra un microclima propicio más fresco, ocupando las zonas del lecho no anegadas con mucha frecuencia por las avenidas. Pertenece a las etapas iniciales de las series de vegetación xero-mediterráneas que fitosociológicamente se incluyen en comunidades de la clase *Rosmarinetea officinalis* y de la alianza *Xero-Aphyllantenion* (Rivas-Martínez, 1982), dando nombre a la subasociación *Festuco-Saturejetosum montanae* (Montserrat Martí, 2000). *S. montana* está presente en el norte de la región mediterránea y oeste de Asia.

S. innota se desarrolla generalmente en matorrales, bordes de quejigar o alcornocal, en substratos calizos o margosos, pedregosos o en gravas de ramblas, llegando desde los 50 hasta los 1000 metros de altura (Flora Iberica, 2010). Su mayor afinidad la encuentra en la asociación *Erico-Thymelaetum tinctoriae* (alianza *Rosmarinion officinalis*, clase *Rosmarinetea officinalis*). Parece requerir un clima suave, sin heladas y con sequía estival no demasiado acentuada. Únicamente ha sido descrita en España, concretamente en el este, en las provincias de Castellón, Valencia y Teruel.

El hábitat de *S. cuneifolia* son matorrales aclarados, pedregales y grietas de rocas calizas o en margas o basaltos. Tiene una marcada

preferencia por los suelos pedregosos y esqueléticos, viviendo en las grietas de las rocas, repisas y laderas pedregosas, así como en los litosuelos calcáreos y suelos de costra caliza. Presenta su mayor afinidad en la asociación *Thymo bracteati-Salvietum lavandulifoliae* (alianza *Eryngio-Ulicion erinacei*, clase *Rosmarinetea officinalis*). Puede extenderse desde los 0-1500 m y ha sido descrita en toda la región mediterránea europea. En la Península Ibérica se distribuye principalmente por el sur de España extendiéndose por el este llegando hasta la provincia de Valencia como límite septentrional.

S. intricata se desarrolla en tomillares y matorrales abiertos, quejigares, sabinares, pinares de *Pinus nigra*, cauces pedregosos de ramblas, páramos pedregosos calizos, a veces arcillosos o, incluso, en margas yesíferas o en substratos arenosos. Fitosociológicamente encuentra su mayor afinidad en la asociación *Thymo bracteati-Salvietum lavandulifoliae*. Es una planta característica de los matorrales mediterráneos continentales, adaptada a aguantar las intensas heladas típicas de este clima y los veranos cálidos y secos. Se desarrolla entre los 350-2150 m y ha sido descrita únicamente en el centro, este y sur de España.

2.2. Composición química del género *Satureja* L.

El aceite esencial de *S. montana*, ha sido estudiado en varios países del mediterráneo como Francia (Djenane *et al.*, 2011; Giordani *et al.*, 2004), Croacia (Milos *et al.*, 2001; Mastelić y Jerković, 2003; Skočibušić y Bezić, 2004a y b; Bezić *et al.*, 2005 y 2009), Serbia (Slavkovska *et al.*, 2001; Bezbradica *et al.*, 2005), Bosnia Herzegovina (Ćavar *et al.*, 2008), Italia (Angelini *et al.*, 2003; Tampieri *et al.*, 2005; Fraternali *et al.*, 2007; Prieto *et al.*, 2007; Lopez-Reyes *et al.*, 2010), Albania (Ibraliu *et al.*, 2010; 2011a and b; Coutinho de Oliveira *et al.*, 2012), Grecia (Michaelakis *et al.*, 2007), Eslovenia (Oussalah *et al.*, 2007; Stoilova *et al.*, 2008), España (Velasco-Negueruela y Pérez-Alonso., 1983; Silva *et al.*, 2009; Grosso *et al.*, 2009 y 2010) o Portugal (Serrano *et al.*, 2011). En todos ellos aparecen los monoterpenos oxigenados timol, carvacrol o sus precursores biogénicos hidrocarbonados *p*-cimeno y γ -terpineno como compuestos mayoritarios del aceite esencial, dependiendo sus proporciones de la localización, de la época de recolección o del estado fenológico de las plantas.

De la misma manera, se han llevado a cabo numerosos trabajos sobre la composición del aceite esencial de *S. cuneifolia*. Las poblaciones a lo largo de la cuenca mediterránea han sido estudiadas en Turquía (Tümen,

1991; Tümen *et al.*, 1998; Biavati *et al.*, 2004; Azaz *et al.*, 2005; Kan *et al.*, 2006; Altun y Goren, 2007; Eminagaoglu *et al.*, 2007; Kosar *et al.*, 2008; Oke *et al.*, 2009), Croacia (Milos *et al.*, 2001; Skočibušić *et al.*, 2004; Skočibušić y Bezić, 2004a; Bezić *et al.*, 2005 y 2009), Serbia (Menković *et al.*, 2007; Šavikin *et al.*, 2010), Italia (Tommasi *et al.*, 2008) y España (Velasco-Negueruela y Pérez-Alonso, 1983; Jordán *et al.*, 2010). La composición cuantitativa y cualitativa del aceite esencial de esta especie varía dependiendo del país de origen. Así, todas las muestras procedentes de Turquía presentan una composición similar a *S. montana*, con carvacrol como componente mayoritario, seguido de *p*-cimeno, γ -terpineno y timol mientras que la composición de los aceites esenciales procedentes de Croacia y España presenta una gran variabilidad, poniendo de manifiesto una dependencia con los factores ambientales.

Son pocos los estudios analíticos llevados a cabo con el aceite esencial de *S. intricata* y *S. innota*. Según Jordán *et al.* (2010), los componentes mayoritarios del aceite esencial de *S. intricata* son timol (18.0%) y sus precursores *p*-cimeno (25.7%) y γ -terpineno (11.0%), así como borneol (8.5%), mientras que los compuestos principales de esta especie (anteriormente conocida como *S. cuneifolia* Ten. subsp. *gracilis*) para Velasco-Negueruela y Pérez-Alonso (1983) son *p*-cimeno + α -terpineno (36.99%), linalol (9.79%), γ -terpineno (8.89%), borneol (8.03%), alcanfor (7.11%) y mirceno (5.19%).

El único estudio previo sobre la composición del aceite esencial de *S. innota* (Velasco-Negueruela y Pérez-Alonso, 1983) obtuvo alcanfor (11.14%), α -pineno (8.26%) y canfeno (7.94%) como componentes mayoritarios del aceite esencial de dicha especie.

2.3. Factores que condicionan la composición de aceites esenciales

Se conocen con profundidad los cambios morfológicos de las plantas como adaptación a las condiciones ambientales (Vicente y Legaz, 2000; Salisbury y Ross, 2000). El estudio de los distintos tipos de adaptaciones fisiológicas y bioquímicas está adquiriendo una importancia relevante. En este sentido, se han llevado a cabo numerosos estudios sobre la variación cualitativa y cuantitativa de los aceites esenciales de las plantas aromáticas como respuesta adaptativa a los factores ecológicos.

Entre las gimnospermas, los aceites esenciales han sido utilizados como marcadores para establecer diferencias a nivel específico (p.e. en *Pinus*; Hegnauer, 1962) o para la detección de híbridos (Stuessy, 1990). Sin embargo, la mayoría de las veces y principalmente en las angiospermas, la variabilidad intraespecífica detectada en la composición de los aceites esenciales es bastante superior a la que presentan otros metabolitos secundarios (Kokkini, 1991). Por esta razón, se han utilizado para definir quimiotipos o razas químicas. Una misma especie, morfológicamente homogénea y con un cariotipo estable, puede presentar diferente composición química (Bruneton, 1999). A esta variación en la composición del aceite esencial de una misma especie se le denomina quimiotipo. Los quimiotipos, denominados también razas químicas, son muy comunes en las plantas que contienen aceites esenciales.

El análisis del aceite esencial de las distintas especies dentro de un mismo género es una herramienta complementaria al sistema taxonómico allí donde existen discrepancias según distintos autores. En el sur de Croacia (Bezić *et al.*, 2009), por ejemplo, se ha realizado un estudio fitoquímico como apoyo de un estudio genético (secuencia del espaciador transcrito interno, ITS) de distintas especies de *Satureja*, para resolver estos problemas taxonómicos. En dicho estudio se trabajó con las cuatro especies de *Satureja* presentes en la región mediterránea de Croacia: *S. montana* L., *S. cuneifolia* Ten., *S. subspicata* Vis. y la especie endémica *S. visianii* Šilić. El análisis filogenético indicó que *S. montana* y *S. cuneifolia*, caracterizadas por una composición similar de aceite esencial, rica en el monoterpeno oxigenado carvacrol, se mostraban agrupadas y separadas de las otras dos especies estudiadas (*S. subspicata* y *S. visianii*), agrupadas entre ellas, aunque mostraban diferencias en el compuesto principal del aceite esencial (α -pineno y alcanfor, respectivamente).

Son numerosos los factores ecológicos que influyen en la composición cualitativa y sobre todo cuantitativa de los aceites esenciales. El origen geográfico de las plantas, y como consecuencia el componente bioclimático y edáfico de las mismas, influyen notablemente en la composición de los aceites esenciales. Dicho factor se ha determinado como clave en la variación del aceite esencial de *S. montana* en el centro de la Península Balcánica (Slavkovska *et al.*, 2001), donde la composición del aceite esencial de *S. montana* ssp. *montana* varió en función de la zona de recolección. Asimismo, la variación espacial en la composición del aceite esencial de *S. montana* ha sido también estudiada en Albania en dos ocasiones (Ibraliu *et al.*, 2010, 2011a). De la misma manera se ha trabajado con la especie *S.*

cuneifolia en el sur de Puglia, Italia (Tommasi *et al.*, 2008), donde se compararon un total de 36 muestras de esta especie, con diferencias en la composición del aceite esencial en función de su procedencia.

La estacionalidad es otro factor que determina la composición de dichos aceites, como se ha demostrado en estudios realizados sobre la especie *S. montana* en Croacia (Mastelić y Jerković, 2003; Skočibušić y Bezić, 2004b), observando diferencias principalmente a nivel cuantitativo entre los principales componentes del aceite esencial. También en Croacia se llevó a cabo un estudio de la variación tanto estacional como espacial del aceite esencial de *S. montana* y *S. cuneifolia* (Milos *et al.*, 2001), constatándose los mismos resultados. Otro estudio llevado a cabo en Turquía (Kosar *et al.*, 2008) analizó el aceite esencial de *S. cuneifolia* antes de la floración, en floración y después de la floración, sin encontrar diferencias importantes entre sus compuestos mayoritarios.

El método de extracción también ha sido descrito como una fuente de variabilidad en la composición de los aceites esenciales. Silva *et al.* (2009) realizaron un estudio de la composición de *S. montana* según dos métodos de extracción: hidrodestilación (HD) y extracción con fluido supercrítico (SFE). En ambos casos la composición fue similar, sin diferencias significativas.

2.4. Usos y aplicaciones del aceite esencial de *Satureja L.*

La gran variabilidad de estructuras químicas (hidrocarbonadas, oxigenadas) presentes en los aceites esenciales es responsable del abanico de actividades biológicas observadas y de su aplicación cada vez mayor en campos de la salud humana y animal. Concretamente, muchos aceites esenciales y sus compuestos independientes han sido utilizados tradicionalmente como antisépticos. En general, los aceites esenciales que contienen un alto porcentaje en compuestos fenólicos (timol, carvacrol y eugenol) poseen una notable actividad antimicrobiana. La necesidad de nuevos agentes anti-infecciosos debido a la aparición de resistencias múltiples ha llevado a la búsqueda de nuevas fuentes de agentes potenciales antimicrobianos (Carson y Riley, 2003).

Las especies ibéricas del género *Satureja* se han utilizado tradicionalmente por sus propiedades medicinales, así como por sus aplicaciones condimentarias, todas ellas derivadas en gran medida a la composición de

sus aceites esenciales (López González, 1982). Debido al alto contenido de timol y carvacrol en distintas especies de *Satureja* y su fácil cultivo son muy apreciadas para el aliño de coservas en salmuera, condimentos, adobo de las carnes, elaboración de licores, así como en industrias farmacéuticas y cosméticas. Las especies de ajedrea han sido tradicionalmente utilizadas para combatir dolores musculares, como tónico, carminativo y para tratar desórdenes estomacales o intestinales como náuseas, indigestión o diarrea (Zargari, 1990).

De todas las especies, la más comúnmente utilizada y sobre la que se han realizado mayor número de trabajos es sin duda *S. montana* L. Se utilizan las hojas y las sumidades floridas (Mendiola Ubillos, 2001). Esta especie está recogida en casi todos los tratados de materia médica de la antigüedad; era muy apreciada como medicinal y como condimento (Muñoz Centeno, 2003). En infusión se emplea como aperitivo, eupéptico, antiparasitario y antitusígeno. También puede utilizarse para realizar gargarismos en infecciones como amigdalitis y faringitis. En forma de compresas tiene aplicación como antiinflamatorio. En uso externo se utiliza para limpiar heridas, quemaduras, ulceraciones dérmicas, etc. (Arteche *et al.*, 2000). Siempre debe usarse con precaución ya que pueden aparecer erupciones cutáneas tras administrarse por vía interna (Mulet Pascual, 1997) y a dosis altas el aceite esencial puede actuar como narcótico e hipertensivo.

El empleo de antioxidantes naturales producidos por las plantas superiores ha crecido recientemente debido a los efectos secundarios de los antioxidantes sintéticos (Bakkali *et al.*, 2008). Las especies del género *Satureja* contienen isoprenoides como carvacrol, timol, β -cariofileno, γ -terpineno, *p*-cimeno y linalol, y compuestos fenólicos como los flavonoides, por lo que cabe esperar que posean una fuerte actividad antioxidante (Ruberto y Baratta, 2000). La actividad antioxidante del aceite esencial del género *Satureja* ha sido confirmada en estudios realizados en *S. cuneifolia* (Eminagaoglu *et al.*, 2007; Kosar *et al.*, 2008; Oke *et al.*, 2009;), *S. montana* (Madsen *et al.*, 1996; Čavar *et al.*, 2008; Stoilova *et al.*, 2008; Grosso *et al.*, 2009a; Serrano *et al.*, 2011; Coutinho de Oliveira *et al.*, 2012) y *S. intricata* (Jordán *et al.*, 2010).

Los aceites esenciales pueden tener también actividad antifúngica (Burt, 2004). El modo de acción de los aceites esenciales como agentes antifúngicos no se conoce con exactitud. Se piensa que puede ser debido al carácter lipofílico o hidrofóbico de los mismos, lo que permite que atraviesen las membranas de las células y entren en el citoplasma (Pawar y Thaker,

2006). Los aceites esenciales provenientes de plantas, que son ricos en compuestos fenólicos, pueden inhibir el crecimiento de algunas especies de hongos por lo que podrían ser utilizados como una alternativa a los fungicidas sintéticos.

La actividad antifúngica del aceite esencial de *S. montana* y *S. cuneifolia* ha sido comprobada sobre distintos hongos patogénicos y de postcosecha. En Turquía (Azaz *et al.*, 2005), se llevó a cabo un estudio de actividad antimicrobiana de varias especies de *Satureja* entre las que se encontraba *S. cuneifolia*. Entre los ensayos realizados se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales empleados frente a la levadura *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout. También se realizó un ensayo de inhibición de la germinación de esporas en hongos como *Penicillium clavigerum* Demelius, *Mucor hiemalis* Wehmer y *Absidia glauca* Hagem. En Croacia (Skočibušić y Bezić, 2004a), se llevaron a cabo ensayos de actividad antifúngica del aceite esencial de *S. montana* y *S. cuneifolia* sobre dos levaduras (*C. albicans* y *Saccharomyces cerevisiae* Meyen) y el hongo *Aspergillus fumigatus* Pers., además de realizarlo sobre 6 cepas distintas de bacterias. Se determinó nuevamente la concentración mínima inhibitoria, transfiriendo diferentes concentraciones del aceite esencial a placas Petri con los diferentes hongos en medio de cultivo PDA (patata, dextrosa, agar). Skočibušić *et al.*, (2004), trabajaron nuevamente con el aceite esencial de *S. cuneifolia* sobre estos mismos hongos con esencia proveniente de esta especie antes, durante y después de la floración., determinando la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima fungicida (CMF). Dos de estos autores (Skočibušić y Bezić, 2004b), ensayaron la actividad del aceite esencial de *S. montana* recogido antes, durante y después de la floración sobre 2 hongos (*Aspergillus niger* Tiegh y *A. fumigatus*) y 3 levaduras (*Candida rugosa* (H.W. Anderson) Diddens & Lodder, *C. albicans*, y *S. cerevisiae*), además de realizarlo sobre otras 9 cepas bacterianas, determinando de igual manera la concentración mínima inhibitoria. Del mismo modo se ensayó el aceite esencial de la especie *S. montana* (entre otras especies) recolectada tanto en Francia (Giordani, 2004) como en Italia (Tampieri, 2005), sobre el crecimiento de la levadura *C. albicans*. También en Italia (Fraternali *et al.*, 2007) se realizó un ensayo con el aceite esencial de *S. montana* con el objetivo de evaluar su actividad antifúngica contra nueve hongos fitopatógenos: *Fusarium poae* (Peck) Wollenw., *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., *Fusarium graminearum* Schwabe, *Fusarium sporotrichoides* Sherb., *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc., *Alternaria solani* Sorauer, *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, *Phytophthora cryptogea* Pethybr. & Laff. y *Botrytis cinerea* Pers. Bezić *et al.* (2005) también evaluaron la

actividad antifúngica del aceite de *S. montana* y *S. cuneifolia* sobre las levaduras *C. albicans* y *S. cerevisiae* y el hongo *A. fumigatus*, además de ensayar la actividad antimicrobiana de dichos aceites sobre 6 cepas de bacterias, determinando en este caso la inhibición miceliana a dos concentraciones distintas (10 y 20 μL) de dichos aceites. Por último, en Italia (Lopez-Reyes *et al.*, 2010), comprobaron la eficacia de diversos aceites esenciales, entre los que estaba *S. montana*, en el control de dos hongos de poscosecha: *Penicillium expansum* Link y *B. cinerea*.

Otro de los aspectos prácticos del aceite esencial es su actividad insecticida. En este sentido, el aceite esencial de *S. montana* de poblaciones recolectadas en Grecia ha sido ensayado sobre larvas de *Culex pipiens* L., mostrando una actividad larvicida significativa (Michaelakis, 2007).

Generalmente, la producción de los aceites esenciales son un método de autoprotección contra patógenos ambientales. La actividad antibacteriana de los aceites esenciales depende de factores intrínsecos cualitativos y cuantitativos del aceite esencial, de la concentración y del microorganismo objeto de estudio (Baydar *et al.*, 2004). La actividad antibacteriana ha sido ampliamente estudiada en las especies *S. cuneifolia* (Aydin *et al.*, 1995; Baydar *et al.*, 2004; Biavati *et al.*, 2004; Skočibušić y Bezić, 2004a y b; Azaz *et al.*, 2005; Bezić *et al.*, 2005; Kan *et al.*, 2006; Menković *et al.*, 2007; Kosar *et al.*, 2008; Oke *et al.*, 2009) y *S. montana* (Skočibušić y Bezić, 2004a y b; Oussalah *et al.*, 2007; Čavar *et al.*, 2008; Chao *et al.*, 2000; Šavikin *et al.*, 2010; Djenane *et al.*, 2011; Serrano *et al.*, 2011).

Por otro lado, las plantas arvenses son responsables de la pérdida del 12% de la producción mundial de cultivos (Anaya, 1999). Es por ello que numerosos estudios están dirigidos hacia el control de la germinación y desarrollo de las plantas arvenses. El uso de herbicidas sintéticos sigue siendo actualmente el más extendido. Sin embargo, el uso indiscriminado de la aplicación de herbicidas sintéticos ha tenido un impacto negativo en el suelo, en la contaminación de acuíferos y en la toxicidad de organismos vivientes, incluidos humanos. Además, se ha incrementado el número de resistencias en las plantas arvenses frente a los herbicidas disponibles, lo que está llevando a la búsqueda de nuevos compuestos con actividad herbicida (Anaya, 1999; Dudai *et al.*, 1999; Singh *et al.*, 2003; Duke *et al.*, 2003).

Los metabolitos secundarios producidos por ciertas especies pueden afectar a la germinación y desarrollo de otras especies. Este hecho ha sido investigado por diferentes autores para el manejo de sistemas agrícolas

(Heisey y Heisey, 2003; Chung *et al.*, 2006; Jasicka-Misiak *et al.*, 2005; Abdelgaleil y Hashinaga, 2007).

La búsqueda de nuevos herbicidas naturales entre los que se encuentran los aceites esenciales se basa en las ventajas que puedan presentar estos metabolitos secundarios (efectivos, respetuosos con el medio ambiente, no acumulables) sobre los herbicidas sintéticos. Los herbicidas sintéticos tienen un limitado número de modos de acción, mientras que los productos naturales, debido a su diversidad estructural, pueden presentar diferentes mecanismos (Weston y Duke, 2003).

Debido a la volatilidad de los aceites esenciales, éstos no se acumulan en los suelos ni acuíferos. Además, presentan poca o nula toxicidad para mamíferos. Los compuestos monoterpenos y sesquiterpenos son conocidos por afectar procesos fisiológicos en las plantas arvenses como la síntesis de clorofila o la fotosíntesis (Weston y Duke, 2003; Azirak y Karaman, 2008).

Se han realizado estudios sobre la posibilidad de empleo del aceite esencial de *S. montana* como herbicida natural. Así Grosso *et al.* (2010) realizaron un ensayo donde se midió la germinación de las semillas y crecimiento en cuatro cultivos (*Zea mays* L., *Triticum durum* L., *Pisum sativum* L. y *Lactuca sativa* L.) y dos plantas arvenses (*Portulaca oleracea* L. y *Vicia sativa* L.) tratadas con aceite esencial y extracto de *S. montana*. Por otro lado, Angelini *et al.* (2003) también ensayaron en Italia el potencial herbicida del aceite esencial de *S. montana* como inhibidores de la germinación de tres plantas arvenses (*Chenopodium album* L., *Portulaca oleracea* L. y *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.) y tres cultivos (*Raphanus sativus* L., *Capsicum annuum* L. y *Lactuca sativa* L.).

El aceite esencial de *S. cuneifolia* también ha sido utilizado como analgésico (Aydin *et al.*, 1995). En este estudio se comparó la actividad del aceite esencial de *S. cuneifolia* junto con otras dos especies (*Origanum onites* L. y *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor.) con otros analgésicos como morfina y fenopropeno en un ensayo realizado sobre ratones. La actividad analgésica de los aceites esenciales está relacionada con el contenido en carvacrol.

Estudios realizados *in vitro* han demostrado que el extracto acuoso de *S. montana* tiene un efecto inhibitor sobre el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (Yamasaki *et al.*, 1998).

Por último, existen estudios y una patente internacional sobre el uso de extractos de *S. montana* en el tratamiento de la eyaculación precoz (Baraldi, 2006; Zavatti *et al.*, 2011).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Procedencia del material vegetal

Entre junio de 2009 y marzo de 2010 se tomaron muestras del material vegetal correspondientes a nueve poblaciones representativas del área biogeográfica de *Satureja* L. en la Comunidad Valenciana (Bolòs *et al.*, 2003) (Tabla 1). Dicho muestreo se realizó en cada una de las cuatro estaciones del año, dado el marcado carácter estacional del clima Mediterráneo.

Los "vouchers" han sido depositados en el herbario del Instituto Agroforestal Mediterráneo (Universidad Politécnica de Valencia).

Para cada población y época del año se tomaron cuatro muestras al azar a fin de comprobar la variabilidad debida a factores poblacionales y su significación estadística.

Tabla 1: Relación y localización de las poblaciones estudiadas

Especies	Código	Coordenadas	Altura s.n.m.	Localidad
<i>S. montana</i>	MONT 1	40° 19,457' N 0° 8,166' W	801 m	Barranco Culla
<i>S. montana</i>	MONT 2	40° 15,043' N 0° 21,339' W	1282 m	San Juan de Peñagolosa
<i>S. cuneifolia</i>	CUNE	39° 11,835' N 0° 14,498' W	10 m	Cullera
<i>S. innota</i>	INNO 1	40° 19,826' N 0° 6,671' W	812 m	Culla
<i>S. innota</i>	INNO 2	39° 56,167' N 0° 22,645' W	312 m	Sueras
<i>S. intricata</i>	INTR 1	39° 27,733' N 0° 43,983' W	327 m	Chiva
<i>S. intricata</i>	INTR 2	39° 28,383' N 0° 46,800' W	616 m	Chiva
<i>S. intricata</i>	INTR 3	38° 53,783' N 0° 46,966' W	641 m	Navalón
<i>S. intricata</i>	INTR 4	38° 54,783' N 0° 50,583' W	811 m	Navalón

3.2. Morfometría

Para proceder al estudio de las diferencias morfológicas entre las cuatro especies del género *Satureja* propuestas, se realizó una revisión morfométrica.

Se efectuó un muestreo de ejemplares de las poblaciones en estudio en los que se midieron diferentes caracteres con valor taxonómico. Para una mayor exactitud, se utilizó un programa informático (Image Tool 3.00), apreciando hasta centésimas de milímetro.

Las determinaciones se realizaron sobre un muestreo de 10 ejemplares representativos de cada población, estableciéndose 3 repeticiones por carácter estudiado (30 mediciones OTUs). Se estudiaron a tal efecto dos poblaciones de *S. montana* (MONT 1 y MONT 2), una de *S. cuneifolia* (CUNE), dos de *S. innota* (INNO 1 e INNO 2) y cuatro de *S. intricata* (INTR 1, INTR 2, INTR 3 e INTR 4) (Tabla 1).

3.2.1. Caracteres morfológicos

Se consideraron los caracteres más relevantes empleados en la taxonomía de dicho género (Flora Iberica, 2010). Basándonos en las descripciones de cada una de las especies encontradas en la bibliografía y en la propia observación de las mismas, se establecieron los siguientes caracteres: longitud y anchura de las hojas, ratio longitud-anchura, longitud y densidad de los pelos de las hojas, longitud del cáliz y longitud de los dientes del cáliz (Figuras 9 y 10).

3.2.2. Ordenación de datos y proceso numérico

Con los datos obtenidos se elaboró una matriz en la que las muestras para cada taxón se disponían en filas y los caracteres manejados en columnas como base del posterior análisis discriminante. Se tomaron como valores las medidas obtenidas para cada carácter e individuo estudiado.

La elaboración y procesamiento se realizan mediante el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI (2011).

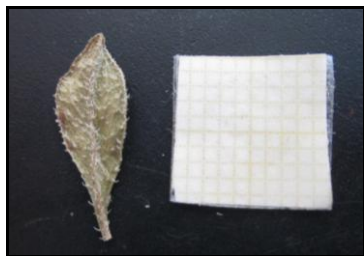


Figura 9. Medición de hojas y pelos de las hojas

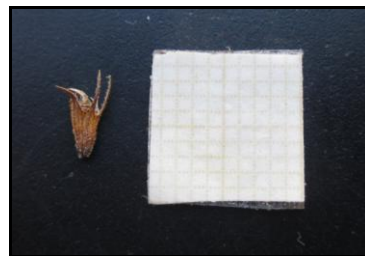


Figura 10. Medición de cáliz y dientes del cáliz

3.3. El medio físico

Se analizaron las principales características edáficas y climáticas para cada localidad con el fin de determinar su posible relación con la composición del aceite esencial de las poblaciones en estudio.

3.3.1. Estudio edáfico: procedimiento analítico

Con objeto de poder establecer criterios diferenciadores en cuanto a las características edáficas, se determinaron una serie de componentes. La metodología se basa en el trabajo de Porta Casanellas *et al.* (1986 y 1994).

La toma de muestras se realizó a nivel de la rizosfera, recogiendo para cada localidad tres muestras de forma aleatoria, de aproximadamente 500 cm³. Las muestras debidamente etiquetadas se llevaron al laboratorio dejándose secar a temperatura ambiente hasta alcanzar un peso constante.

Los análisis realizados para las muestras de suelo se llevaron a cabo en el laboratorio de suelos y aguas del Instituto Agroforestal Mediterráneo de la Universidad Politécnica de Valencia. El procedimiento seguido fue el siguiente:

3.3.1.1. Textura

La metodología para la determinación de la textura se realizó atendiendo las normas establecidas por la International Society of Soil Science System (Black, 1968).

El análisis se realiza por el método del densímetro de Bouyoucos (1936), determinando el contenido en cada una de las fracciones según la velocidad de sedimentación basada en la ley de Stockes.

La textura se determina según el diagrama triangular de texturas del Manual de Inspección de Suelos (Soil Survey Manual) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (U.S.D.A.) (1964, 1995).

3.3.1.2. Carbonato cálcico equivalente

Se empleó el método del Calcímetro de Bernard, recogido por la Comisión de Métodos Oficiales del Ministerio de Agricultura de España (1975). Para la clasificación de un suelo según el nivel de carbonatos se siguió la categorización propuesta por Marín *et al.* (2003) que varía de 0-5 % (muy bajo) a >40% (muy alto).

3.3.1.3. Carbonato cálcico activo

El método utilizado se basa en la valoración por calcimetría del carbonato amónico formado al reaccionar la caliza de tamaño fino con una solución de oxalato amónico. Se siguió la clasificación expuesta por Marín *et al.* (2003) para la jerarquización del suelo según la caliza activa.

3.3.1.4. Materia orgánica

La determinación cuantitativa de la materia orgánica se realiza analizando el carbono orgánico mediante su oxidación (Walkley y Black, 1934; Walkley, 1947). La clasificación seguida (Marín *et al.*, 2003) agrupa suelos que van desde un contenido muy bajo de materia orgánica (<1%) a un contenido alto (>2,5%).

3.3.1.5. Capacidad de campo

La metodología seguida es la adoptada por el Laboratorio de Salinidad de los Estados Unidos (U.S. Salinity Laboratory Staff, 1954-1969). En nuestro caso se tomaron 100 g de tierra seca y se calculó la capacidad de campo como los mililitros (mL) de agua absorbida por los 100 gramos de muestra.

3.3.1.6. Determinaciones en el extracto de pasta saturada

El extracto de pasta saturada se obtiene por filtración al vacío de la pasta saturada explicada en el anterior apartado, después de un reposo mínimo de una hora.

En el extracto de pasta saturada se determinaron los microelementos Calcio, Sodio y Potasio. La técnica empleada fue la fotometría de llama seleccionando el filtro adecuado mediante fotómetro de llama (Clinical Flame Photometer 410 C).

3.3.1.7. pH

El pH se determinó potenciométricamente mediante un multiparamétrico (PC 700 Bench Meter) con una solución suelo-agua 1:2,5. Las muestras estudiadas fueron clasificadas según su alcalinidad siguiendo las directrices del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Soil Survey Staff, 1993).

3.3.1.8. Conductividad

Se determina filtrando una solución suelo-agua 1:5 previamente agitadas durante 30 minutos (Saline and Alkali Soils, 1954-1969) utilizando un multiparamétrico (PC 700 Bench Meter), expresando los resultados en dS/m a 25°C.

Los valores de la conductividad eléctrica ponen de manifiesto el carácter salino o no de los sustratos edáficos. Agronómicamente se consideran suelos no salinos los que contienen una conductividad inferior a 2 dS/m,

siendo clasificados como fuertemente salinos los sustratos que presentan una conductividad superior a 16 dS/m (Soil Survey Staff, 1993).

La Figura 11 muestra a modo resumen el procedimiento analítico seguido en el estudio del medio edáfico.

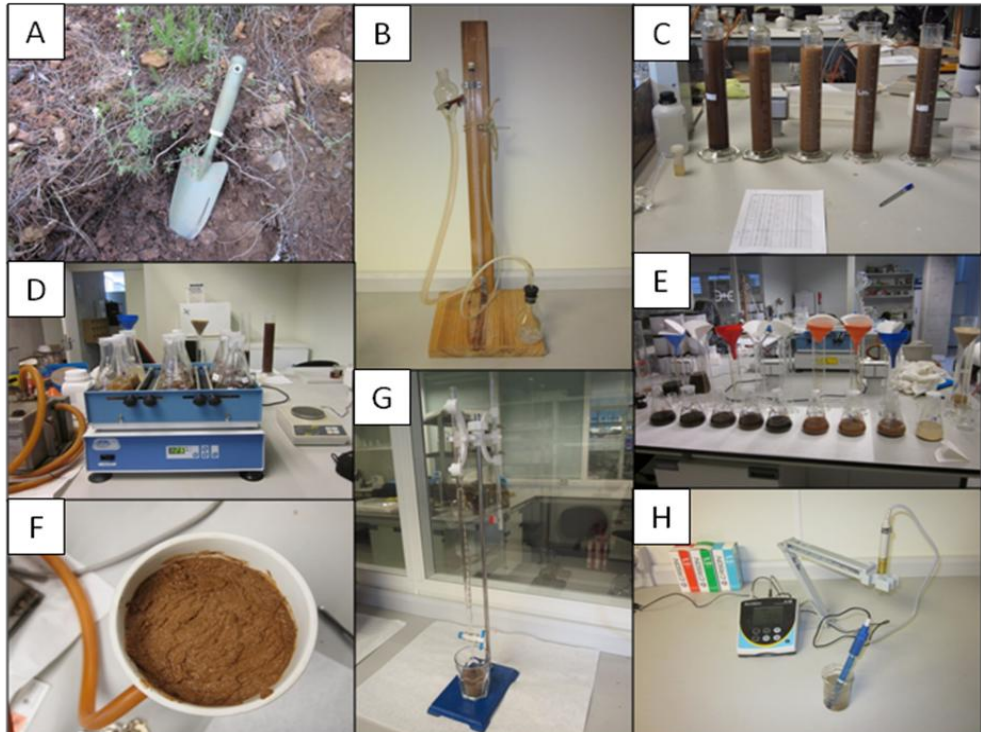


Figura 11. A: Toma de muestras; B: calcímetro de Bernard. Determinación de carbonato cálcico equivalente; C: determinación de la textura del suelo; D: plataforma giratoria. Determinación de carbonato cálcico activo; E: Determinación cuantitativa de la materia orgánica de un suelo; F: Filtración al vacío del extracto de pasta saturada. Determinación de microelementos; G: Determinación de la capacidad de campo de un suelo; H: Determinación de pH y conductividad.

3.3.2. Caracterización bioclimática

Con el fin de establecer las relaciones entre las variables bioclimáticas y la composición de los aceites esenciales de cada población se dispusieron estaciones microclimáticas (Hobo Pro v2, Figura 12) en cuatro de las nueve poblaciones (Figura 13) objeto de estudio (MONT 1, MONT 2,

INNO 1 e INTR 2) durante el período de recogida de muestras (entre junio de 2009 y marzo de 2010). Los datos obtenidos por dichas estaciones (temperatura y humedad relativa) se contrastaron con datos históricos de estaciones cercanas para determinar la relación entre las características microclimáticas de las poblaciones con dichas estaciones.



Figura 12. Estación microclimática Hobo Pro v2



Figura 13. Colocación de estación microclimática

Para las poblaciones en las que no se colocaron estaciones microclimáticas (INNO 2, CUNE, INTR 1, INTR 3 e INTR 4) se tomaron directamente los datos históricos de las estaciones climáticas más cercanas.

Para las localidades donde se encuentra la especie *S. montana* (San Juan de Peñagolosa, MONT 2; y Culla, MONT 1), así como para la población de *S. innota* de Culla (INNO 1), se recogen datos de la estación de Vistabella, durante un periodo de 19 años, tanto para la observación térmica como para la pluviométrica.

Para determinar la diagnosis bioclimática de la localidad donde se encuentra la segunda población de *S. innota* (Sueras), se recogen datos termoplumiométricos de la estación de Segorbe, con un periodo de observación térmica y pluviométrica de 27 años.

En el caso del taxón *S. cuneifolia* se adjuntan los datos de la estación de Cullera, con un periodo de observación térmica y pluviométrica de 10 años.

Para las dos primeras poblaciones de *S. intricata*, situadas en la localidad de Chiva, se recogen datos termopluiométricos de la estación de Siete Aguas, con un periodo de observación térmica y pluviométrica de 24 años.

Las otras dos poblaciones de *S. intricata* están ubicadas en Naválón, por lo que se adjuntan los datos meteorológicos de la estación de Enguera, con un periodo de 22 años, tanto para la observación térmica como para la pluviométrica.

Se han considerado los índices climáticos que han demostrado una correlación con la vegetación y en consecuencia puedan ofrecer un valor predictivo (Rivas-Martínez *et al.*, 2007). De entre los índices propuestos se consideran los siguientes:

Índice de continentalidad (Ic): diferencia entre la temperatura media del mes más cálido (Tmax) y la del mes más frío (Tmin).

Índice de termicidad (It): se calcula como la suma en décimas de grado de la temperatura media anual (T), temperatura media de las mínimas del mes más frío del año y temperatura media de las máximas del mes más frío del año.

Índice de termicidad compensado (Itc): índice de termicidad \pm valor de compensación. El valor de compensación depende del índice de continentalidad.

$$\text{Si } Ic < 9, \text{ Itc} = It - 90 + (10Ic)$$

$$\text{Si } 18 > Ic > 9, \text{ Itc} = It$$

$$\text{Si } Ic > 18, \text{ Itc} = It + C1 + C2 + C3 + C4$$

$$C1 = 5 (Ic - 18) \text{ valor máximo: } 15, \text{ valor mínimo: } 0.$$

$$C2 = 10 (Ic - 21) \text{ valor máximo: } 60, \text{ valor mínimo: } 0.$$

$$C3 = 20 (Ic - 27) \text{ valor máximo: } 380, \text{ valor mínimo: } 0.$$

$$C4 = 30 (Ic - 46) \text{ valor mínimo: } 0.$$

Temperatura positiva anual (Tp): suma de las temperaturas medias mensuales superiores a 0°C, expresado en décimas de grado.

Precipitación positiva (Pp): precipitación anual en mm de los meses con la temperatura superior a 0°C.

Índice ombrotérmico (Io): cociente entre la precipitación positiva y la temperatura positiva anual, expresado en grados.

3.3.2.1. Red de estaciones y muestreo de datos

Se recogieron los datos termopluviométricos de las estaciones próximas a las localidades donde se ubican las poblaciones en estudio. En la Tabla 2 se presenta la red de estaciones que se ha utilizado como referencia para las localidades en las que se han realizado los muestreos.

Tabla 2: Red de estaciones y muestreo de datos

POBLACIONES	ESTACIÓN	ALTITUD
MONT 1, MONT 2, INNO 1	Vistabella	1400 m
CUNE	Cullera	15 m
INNO 2	Segorbe	364 m
INTR 1, INTR 2	Siete Aguas	697 m
INTR 3, INTR 4	Enguera	826 m

Fuente: Rivas-Martínez y Rivas-Sáenz, 2009

3.4. Fitoquímica

3.4.1. Material vegetal

Para la obtención de los aceites esenciales se recolectaron las partes aéreas de las distintas poblaciones (Tabla 1) de las especies de *Satureja* estudiadas. La recogida del material vegetal tuvo lugar durante los meses de cada una de las estaciones del año entre junio de 2009 y marzo de 2010.

3.4.2. Obtención del aceite esencial. Determinación de rendimientos

Dadas las características físicas de los aceites esenciales, se empleó como método de extracción la hidrodestilación de las partes aéreas tomadas de forma aleatoria, para cada población y estación.

Los aceites esenciales se obtuvieron mediante arrastre en corriente de vapor, utilizando un aparato tipo Clevenger (Figura 14) y matraces redondos de 2 y 4 L. Se introdujo en los matraces el material fresco, previamente pesado en balanza de precisión, y se añadieron 1000 ó 2000 mL de agua destilada, dependiendo en cada caso de la cantidad de muestra procesada. Mediante una manta calefactora se aplicó calor al matraz redondo, generándose vapor de agua, que arrastró los componentes volátiles de la droga, condensándose en el refrigerante, y pasando al tubo colector graduado, donde se separó el aceite esencial. Este proceso se mantuvo durante al menos 3h, finalizando la destilación cuando se observó que la cantidad de aceite esencial destilado no aumentó en un periodo de 30 minutos.



Figura 14. Clevenger

Una vez enfriado el sistema, se recogió el aceite esencial con hexano, se deshidrató con sulfato sódico anhidro y se almacenó a 4°C hasta su posterior análisis cualitativo y cuantitativo.

Para la determinación del rendimiento se obtuvo el aceite esencial a partir de 100 g de planta (tallos, hojas e inflorescencias), expresándose el rendimiento (v/w) como la media de cuatro determinaciones.

3.4.3. Análisis del aceite esencial mediante cromatografía de gases

Se utilizó la cromatografía de gases para llevar a cabo el estudio cuantitativo de los distintos aceites esenciales obtenidos, por ser la técnica que permite predecir el grado de complejidad de un aceite esencial, la naturaleza química de sus componentes y sobre todo la proporción en que se encuentran, a pesar de que dichos compuestos no hayan sido identificados.

El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases Clarus 500GC Perkin Elmer equipado con un detector de ionización de llama, y una

columna capilar Hewlett Packard HP-1 (fenilmetilsilicona) de 30 m, 0.2 milímetros de diámetro interno y 0.33 μm de espesor de película.

El cromatógrafo de gases va provisto de un registrador Kipp and Zoren BD-40 y de una unidad terminal consistente en un integrador Spectra-Physica 4290, que permite medir el área de los picos determinando así el porcentaje de los componentes.

Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

Temperatura inicial: 60°C

Tiempo inicial: 5 minutos

Gradiente: 3°C/min

Temperatura intermedia: 180°C

Gradiente: 20°C/min

Temperatura final: 280°C

Tiempo final: 10 minutos

Gas portador (helio): 1 ml/min (splitless)

Temperatura del inyector: 225°C

Temperatura del detector (FID): 250 °C

Mediante la cromatografía gaseosa se obtuvo, en segundo lugar, el índice de Kovats, de gran ayuda en la identificación de los distintos componentes del aceite esencial, por comparación con los índices de Kovats tabulados (Adams, 2001 y 2007).

Los índices de retención de Kovats fueron calculados utilizando una mezcla de hidrocarburos estándar ($\text{C}_8\text{-C}_{32}$). Para obtener mayor reproducibilidad en los resultados se utilizó la misma columna y programa de temperaturas que en el análisis cuantitativo. Dichos índices se determinaron a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{IK} = 100 * (\text{n}^\circ \text{C HC}_{\text{n-1}} + [(\log \text{TR X} - \log \text{TR HC}_{\text{n-1}}) / (\log \text{TR HC}_{\text{n+1}} - \log \text{TR HC}_{\text{n-1}})])$$

Siendo:

$\text{n}^\circ \text{C HC}_{\text{n-1}}$: número de carbonos del hidrocarburo anterior al compuesto

TR X: tiempo de retención del compuesto

TR $\text{HC}_{\text{n-1}}$: tiempo de retención del hidrocarburo anterior al compuesto

TR $\text{HC}_{\text{n+1}}$: tiempo de retención del hidrocarburo posterior al compuesto

3.4.4. Análisis del aceite esencial mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas

Los resultados obtenidos mediante el acoplamiento de la espectrometría de masas a la cromatografía gaseosa, hacen que esta técnica sea la más empleada en el análisis cualitativo de mezclas complejas volátiles.

Se utilizó la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM), empleando las mismas condiciones que en el estudio cuantitativo; obteniendo de este modo, los espectros de masas de cada uno de los compuestos. Esta técnica permite, mediante la interpretación de los espectros, obtener la información estructural necesaria de los componentes de un aceite esencial. Además, la comparación con el espectro de sustancias patrones, evita posibles diferencias debidas al equipo de trabajo utilizado.

El análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas se realizó mediante un aparato tipo Varian Saturn 2000 equipado con una columna capilar Varian C.S VA-5MS de 30 m de largo y de 0.25 mm de diámetro interno, con 0.25 μm de espesor de la película. Los espectros se realizaron en un rango de masas de 28-400 m/z, con un voltaje de ionización de 70 eV.

3.4.5. Procesado de datos

Se determinó la evolución temporal de los compuestos mayoritarios (>10% en alguno de los cuatro muestreos) y series terpénicas de cada una de las poblaciones mediante una recta de ajuste polinómica de tercer grado ($R^2=1$).

Con los datos obtenidos se elaboró una matriz con los componentes mayoritarios identificados en columnas y las distintas muestras analizadas en filas (cuatro muestras para cada localidad y período de muestreo). Posteriormente se eliminaron las variables relacionadas (coeficiente de correlación $\geq 0,9$) y la matriz resultante se sometió a un análisis discriminante. La elaboración y procesamiento de los datos se realizaron mediante el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI (2011).

Asimismo, se realizó un análisis de correspondencias canónico entre los compuestos mayoritarios identificados y los factores ecológicos de las poblaciones de origen. La relación entre ambas matrices se hace por medio de técnicas de regresión multivariante. Para ello se utilizó el programa estadístico MVSP 3.0 (MultiVariate Statistical Package) (2010).

3.5. Actividad del aceite esencial

3.5.1. Obtención de aceites esenciales

Para la realización de las pruebas de actividad del aceite esencial se seleccionaron cinco aceites esenciales que, previo análisis, presentaban una composición significativamente diferente: una de las poblaciones de *S. montana* (MONT 1), una de *S. intricata* (INTR 3), la población de *S. cuneifolia* (CUNE) y las dos poblaciones de *S. innota* (INNO 1 y 2).

El aceite esencial se obtuvo en septiembre de 2010 en cantidad suficiente para llevar a cabo todas las pruebas. Para la obtención del aceite, se utilizó en esta ocasión un extractor de aceites esenciales de 20 L de la casa Albrigi Luigi (Figura 15). Se llenó el fondo del extractor con agua desionizada, introduciéndose el material vegetal. Una vez cerrado el extractor herméticamente, se calentó mediante placa calefactora, produciéndose vapor de agua, que arrastraba los componentes volátiles de la droga. Éstos se condensaban al pasar por el refrigerante, recogiendo el aceite esencial en el tubo colector. Este proceso se mantuvo durante al menos 3h, finalizando la destilación cuando se observó que la cantidad de aceite esencial destilado no aumentó en un periodo de 30 minutos.

Todos los aceites esenciales obtenidos se conservaron en nevera a 4°C.



**Figura 15. Extractor
Albrigi**

3.5.2. Actividad fitotóxica

3.5.2.1. Arvenses

Con objeto de obtener semillas para la realización de ensayos, se recolectaron plantas en estado de fructificación de las especies *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. y *Conyza canadensis* (L.) Cronq. entre agosto de 2008 y noviembre de 2011 de campos de cultivo situados en Valencia y Sinarcas. Durante 15 días las plantas se secaron en laboratorio, a temperatura ambiente. Posteriormente se extrajeron las semillas, que fueron seleccionadas, eliminando las que tuvieron un tamaño, color, forma o estado de maduración anómalo. Las semillas se conservaron en placas Petri de 9 cm de diámetro selladas con Parafilm, y se hicieron dos lotes con semillas de cada planta, conservándose el primero a temperatura ambiente (para evitar la aparición de latencias debido al frío) y el segundo en nevera a 4°C, hasta el momento de su utilización.

3.5.2.2. Evaluación del potencial de inhibición de la germinación y el crecimiento.

Para llevar a cabo los ensayos de inhibición de la germinación se sembraron 20 semillas de cada especie arvense (*A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*) en placas Petri de 9 cm de diámetro. Como sustrato se utilizaron dos discos de papel de filtro de 9 cm de diámetro y 50 g/m² de espesor (Figura 16), y otros dos discos de papel cubrieron las semillas siendo im-

pregnadas todas las placas con 4 mL de agua destilada (control), y volúmenes de 0.5, 1, 2 y 4 μL del aceite esencial, obteniéndose concentraciones de 0.125, 0.25, 0.5 y 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ respectivamente (Figura 17). Las placas fueron selladas con Parafilm. Se realizaron 5 repeticiones (100 semillas) para cada una de las tres arvenses.

Las placas con semillas se incubaron en cámara de germinación (marca CLIMAS modelo APG-GROW), a una temperatura de $30.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ durante 16 horas de luz y $20.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ durante 8 horas de oscuridad en el caso de *P. oleracea* y *C. canadensis*. Para *A. hybridus* se utilizó una temperatura constante de $27.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las condiciones de incubación fueron seleccionadas en base a la bibliografía existente (Angelini *et al.*, 2003; Steckel *et al.*, 2004) y a ensayos preliminares (Verdeguer *et al.*, 2011).



Figura 16. Siembra de semillas

Figura 17. Adición del aceite esencial

Para evaluar la actividad herbicida de los aceites esenciales se hicieron lecturas de las placas a los 3 (sólo en *A. hybridus* y *P. oleracea*, al iniciar la germinación antes que *C. canadensis*), 5, 7, 10, 14 y 21 (esta última sólo en el caso de *C. canadensis* debido a que es más lento su crecimiento) días de incubación. Se registró el número de semillas germinadas y se obtuvieron imágenes digitales de las plántulas crecidas, para posteriormente medir su longitud (coleoptilo más radícula), procesando las imágenes mediante el programa Image Tool. Cada vez que se leyeron las placas se sellaron de

nuevo con Parafilm, sin añadir agua ni aceites esenciales durante los ensayos.

3.5.2.3. Tratamiento y análisis estadístico de datos

Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI (2011). Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) a los resultados obtenidos, verificando previamente la homocedasticidad de los datos mediante los test de Cochran, Bartlett y Levene.

Los porcentajes de germinación fueron transformados antes de proceder a realizar el ANOVA mediante la fórmula $y = \arccos \sqrt{x}$, donde x era el porcentaje de germinación en tanto por uno, para satisfacer los requerimientos de homocedasticidad. En algunos casos fue necesario transformar los datos de longitud de plántulas a $y = \log(x+1)$, para cumplir con este requisito.

El ANOVA se realizó utilizando el test de comparación múltiple de Fisher (intervalos LSD, Least Significant Difference) para la separación de medias, con un nivel de confianza del 95% ($P \leq 0.05$). Las diferencias significativas entre los distintos tratamientos se han indicado con letras diferentes en la misma columna, en todas las tablas de resultados.

3.5.3. Actividad fungicida

3.5.3.1. Cultivos fúngicos

Para la determinación de la actividad antifúngica *in vitro* se ensayaron once aislados seleccionados en función de su diferente ubicación taxonómica y modo de actuación. Los aislados incluían tres especies del Reino Chromista (Oomycota): *Phytophthora citrophthora* (R.E. & E.H. Sm.) Leonian, *P. palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler y *Pythium litorale* Nechw. y ocho del Reino Fungi (hongos verdaderos): *Verticillium dahliae* Kleb., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Penicillium hirsutum* Dierckx, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc., *Phaeoacremonium aleophilum* W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai, *Phaemoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams, *Cylindrocarpon liriodendri* J.D. Macdon. & E.E. Butler y *Cylindrocarpon macrodidymum* Schroers, Halleen & Crous, todos ellos procedentes de la micoteca del Grupo de Investigación en Hongos Fitopatógenos de la U.P.V. En la Tabla 3 se presentan las características de las enfermedades

causadas por estos organismos así como el hospedante del que se aisló cada uno de ellos.

Los aislados se conservaron en tubos de agar inclinado con medio de cultivo patata-dextrosa-agar (PDA). Seguidamente se repicaron a placas Petri con medio de cultivo PDA, que se incubaron durante 7-10 días en cámara de cultivo WTB-Binder a una temperatura constante de $25.0\pm 0.1^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad con el fin de obtener una colonización miceliar completa de las placas.

Tabla 3: Aislados fúngicos utilizados en los ensayos

HONGO/OOMICETO	TIPO DE ENFERMEDAD	HOSPEDANTE
<i>P. citrophthora</i>	Necrosis de raíz	Evónimo (<i>Euonymus</i> sp.)
<i>P. palmivora</i>	Necrosis de raíz	Evónimo (<i>Euonymus</i> sp.)
<i>Py. litorale</i>	Necrosis de raíz	Pino (<i>Pinus</i> sp.)
	Enfermedad de postcosecha.	
<i>C. gloeosporioides</i>	En campo desecación de ramillas y brotes	Naranja (<i>Citrus</i> sp.)
<i>Cy. liriodendri</i>	Enfermedad de Petri	Vid (<i>Vitis</i> sp.)
<i>Cy. macrodidymum</i>	Enfermedad de Petri	Vid (<i>Vitis</i> sp.)
<i>Pe. hirsutum</i>	Podredumbre de bulbos (azafrán, gladiolo...)	Tulipán (<i>Tulipa</i> sp.)
<i>Pa. chlamydospora</i>	Enfermedad de Petri	Vid (<i>Vitis</i> sp.)
<i>Pm. aleophilum</i>	Enfermedad de Petri	Vid (<i>Vitis</i> sp.)
<i>R. solani</i>	Podredumbre de raíz y cuello de varias plantas	Col (<i>Brassica</i> sp.)
<i>V. dahlie</i>	Marchitez vascular (verticilosis)	Plátano (<i>Platanus</i> sp.)

3.5.3.2. Ensayo de crecimiento miceliar

Los aceites esenciales se disolvieron en etanol al 0.5% y se añadieron a un medio de cultivo PDA previamente esterilizado y enfriado a 45-50°C. Para cada aceite se prepararon seis concentraciones [0 (control), 0E (control + etanol), 1, 10, 100 y 1000 $\mu\text{L/L}$ (ppm)]. El medio de cultivo con las concentraciones de aceite se volcó en placas Petri de 9 cm de diámetro, donde se dejó solidificar durante al menos 48 horas.

3.5.3.3. Siembra de las placas

A partir de las placas de PDA colonizadas se extrajeron discos de 8 mm de diámetro con la ayuda de un sacabocados (Figura 18). Estos discos de micelio se sembraron en el centro de las placas de PDA con las distintas concentraciones de aceite esencial, el control y el control con etanol, inoculándose cinco placas por cada combinación aislado/aceite/concentración (Figura 19). Una vez sembradas, las placas se incubaron en las mismas condiciones que el apartado anterior.

Todo el ensayo se realizó por duplicado para comprobar que se repiten los resultados a igualdad de condiciones.



Figura 18. Extracción de un disco de la colonia del hongo

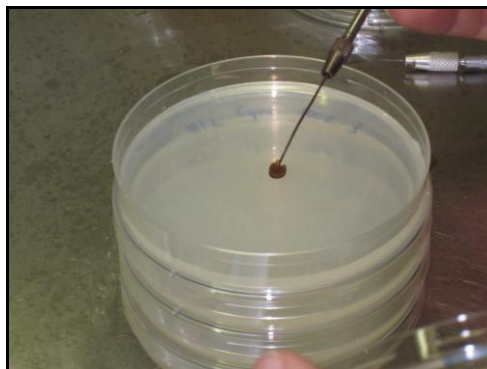


Figura 19. Inoculación en placa tratada

3.5.3.4. Evaluación

Tras el periodo de incubación, se procedió a medir, a los 3, 6 y 9 días, los diámetros de las colonias cogidos al azar y perpendiculares entre sí. Con estos valores se determinó el crecimiento radial para cada aislado y concentración aplicando la fórmula:

$$R = (D-0,8) / 2 \quad \text{Siendo:} \quad R: \text{crecimiento radial (cm).}$$

$$D: \text{diámetro de la colonia (cm).}$$

A partir de los datos de crecimiento radial se determinó, para cada una de las cinco placas de las distintas combinaciones aislado/aceite/concentración, el porcentaje de reducción del crecimiento micelial respecto al control (Grover y Moore, 1962), tomándose el sexto día (medida central de las tres realizadas) para dicho cálculo.

3.5.3.5. Análisis de los resultados

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para saber si hubo algún factor que influyera entre las dos repeticiones efectuadas con la ayuda del software Statgraphics Centurion XVI.

Para poder averiguar la efectividad de los aceites esenciales, se calculó la DE_{50} (en nuestro caso, dosis de aceite esencial que, estadísticamente, causa la reducción de un 50% del crecimiento micelial de un hongo) de acuerdo con el análisis Probit (Finney, 1971). A cada dato de porcentaje de crecimiento respecto al control se aplicó una transformación Probit, mientras que a las concentraciones utilizadas (1, 10, 100 y 1000 ppm) se les aplicó una transformación logarítmica decimal.

Así, con estos datos y con la ayuda de Statgraphics Centurion XVI, se obtuvieron rectas de regresión lineal con su ecuación y coeficiente de correlación (R^2) correspondiente. Con estos datos, se pudo conocer la concentración necesaria de cada aceite esencial para que se produjera una DE_{50} de la siguiente forma:

$$[\text{aceite esencial}] = (y - a) / b$$

Donde: a y b son los valores dados por la ecuación de la recta $y = a + bx$
 y es el Probit de DE_{50} , que corresponde al valor 5
[aceite esencial] es el logaritmo de la concentración que consigue una DE_{50}

3.5.4. Capacidad antioxidante y determinación de compuestos fenólicos totales

3.5.4.1. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de los aceites esenciales se determinó mediante el método FRAP (Ferric Reducing Activity Power) (Benzie y Strain, 1996). El reactivo FRAP fue preparado mezclando 2.5 mL de tampón de acetato (pH=3.6), 2.5 mL de solución TPTZ (2,4,6-tripiridyl-1,3,5-triazine) y 2.5 mL de solución de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. Cada muestra de aceite esencial (30 μ L) reaccionó con 900 μ L de solución FRAP durante 30 min a 37 °C. Se realizaron cuatro repeticiones por cada aceite esencial empleado. Finalmente, se tomaron los valores de absorbancia mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda de 595 nm (Pulido *et al.*, 2000). Los resultados se expresaron como μ moles equivalentes de Trolox (un análogo hidrosoluble de la vitamina E)/ mL.

3.5.4.2. Compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron siguiendo el método Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965; Singleton *et al.*, 1999). Se transfirieron 100 μ L del aceite esencial (por cuadruplicado) a una probeta y se mezcló con 200 μ L de reactivo Folin-Ciocalteu. Después de 3 minutos, para permitir que la reacción se llevara a cabo, se añadió 1 mL de una solución al 20% de Na_2CO_3 . Las probetas se dejaron en oscuridad durante una hora a temperatura ambiente y se midió la absorbancia de la muestra mediante un espectrofotómetro con una longitud de onda de 725 nm frente a un blanco que contenía 100 μ L del reactivo en lugar de la muestra. Se utilizó el ácido gálico para la calibración y los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico (GAE) (mg/mL del aceite esencial).

3.5.4.3. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) mediante el software Statgraphics Centurion XVI (2011). El ANOVA se realizó utilizando el test de comparación múltiple de Fisher (intervalos LSD, Least Significant Difference) para la separación de medias, con un nivel de confianza del 95% ($P \leq 0.05$). Las diferencias significativas entre los distintos tratamientos se han indicado con letras diferentes en la misma columna, en todas las tablas de resultados.

4. RESULTADOS

4.1. Jerarquización de los caracteres morfológicos en la sistemática del género *Satureja* L.

Se determinaron siete caracteres morfológicos para dilucidar la sistemática del género *Satureja* L. Tres de estos caracteres estaban relacionados con el órgano foliar (longitud, anchura y ratio longitud-anchura de la hoja), dos con el cáliz (longitud del mismo y longitud de los dientes del cáliz) y otros dos caracteres referentes a la morfometría de los pelos de las hojas (densidad y longitud) (Tabla 4).

Si comparamos los valores promedio de los datos morfológicos obtenidos en la medición de las hojas para todas las poblaciones en estudio (Tabla 4), destaca la longitud de las hojas de *S. montana* (MONT 1 y MONT 2) con un valor promedio muy superior al de sus congéneres, siendo las hojas de menor longitud las de *S. cuneifolia* (CUNE), significativamente inferior a las especies *S. innota* y *S. intricata*, que mostraron valores intermedios. El análisis de la varianza ANOVA del carácter anchura del limbo foliar (Tabla 4) muestra que la segunda población de *S. innota* (INNO 2) presenta el mayor valor, seguido de la primera población de *S. innota* (INNO 1) y la población de *S. intricata* (INTR 2), sin diferencias entre ellas. Las dos poblaciones de *S. intricata* de Navalón (INTR 3 y 4) son las que menor anchura de hoja mostraron. El ratio longitud-anchura promedio de las hojas es mayor en las dos poblaciones de *S. montana* (MONT 1 y MONT 2), siendo las poblaciones de menor ratio *S. innota* (INNO 1 y INNO 2) y la población de *S. cuneifolia* (CUNE).

La medición de la longitud del cáliz (Tabla 4) indicó diferencias significativas entre la primera población de *S. montana* (MONT 1), de mayor valor, y las demás poblaciones. A continuación se situaron la segunda población de *S. montana* (MONT 2), las dos poblaciones de *S. innota* (INNO 1 y 2) y las tres primeras poblaciones de *S. intricata* (INTR 1, 2 y 3). La población de *S. cuneifolia* (CUNE) fue la que menor tamaño. Lo mismo ocurre con la longitud de los dientes del cáliz, donde cabe destacar de nuevo esta especie como la de menor longitud de este carácter.

La densidad de pelos es mayor en las dos poblaciones de *S. montana* (MONT 1 y MONT 2), seguida de las dos poblaciones de *S. innota*

(INNO 1 y INNO 2), mostrando el menor valor las cuatro poblaciones de *S. intricata* (INTR 1, INTR 2, INTR 3 y INTR 4). Por el contrario, el valor más alto en la longitud de los pelos lo encontramos en las poblaciones de *S. innota* (INNO 1 y INNO 2), siendo el menor en *S. cuneifolia* (CUNE) (Tabla 4).

Tabla 4: Valores promedio de los datos morfométricos de *Satureja L.*

	LH	AH	RH	LC	LDC	DP	LP
MONT 1	19,02 ± 0,24a	3,57 ± 0,09cd	5,43 ± 0,16a	6,17 ± 0,07a	1,91 ± 0,06b	23,50 ± 0,65a	0,50 ± 0,04ab
MONT 2	17,93 ± 0,39b	3,34 ± 0,12d	5,55 ± 0,22a	5,61 ± 0,07b	1,63 ± 0,06c	24,20 ± 0,88a	0,48 ± 0,03b
CUNE	9,34 ± 0,36e	3,37 ± 0,10d	2,80 ± 0,11de	3,80 ± 0,08d	1,14 ± 0,05d	15,90 ± 1,28c	0,11 ± 0,00d
INNO 1	12,44 ± 0,38d	4,30 ± 0,16b	2,94 ± 0,07d	5,58 ± 0,08b	2,10 ± 0,08ab	18,10 ± 0,78b	0,53 ± 0,02a
INNO 2	12,89 ± 0,31cd	5,04 ± 0,13a	2,58 ± 0,06e	5,85 ± 0,13b	2,13 ± 0,09a	18,83 ± 0,91b	0,53 ± 0,02a
INTR 1	12,28 ± 0,28d	3,85 ± 0,12c	3,29 ± 0,08c	5,61 ± 0,11b	2,17 ± 0,07a	8,22 ± 0,46d	0,15 ± 0,01d
INTR 2	13,66 ± 0,26c	4,17 ± 0,09b	3,32 ± 0,06c	5,66 ± 0,10b	2,21 ± 0,07a	7,92 ± 0,43d	0,14 ± 0,01d
INTR 3	12,91 ± 0,37cd	2,85 ± 0,05e	4,53 ± 0,10b	5,58 ± 0,08b	2,29 ± 0,07a	9,60 ± 0,56d	0,23 ± 0,02c
INTR 4	12,43 ± 0,25d	2,75 ± 0,05e	4,54 ± 0,09b	5,26 ± 0,07c	2,10 ± 0,08ab	8,13 ± 0,72d	0,20 ± 0,01c

MONT 1: *S. montana* (Culla); **MONT 2:** *S. montana* (Peñagolosa); **CUNE:** *S. cuneifolia* (Cullera); **INNO 1:** *S. innota* (Culla); **INNO 2:** *S. innota* (Sueras); **INTR 1 y 2:** *S. intricata* (Chiva); **INTR 3 y 4:** *S. intricata* (Navalón)

LH: longitud de hoja; **AH:** anchura de hoja; **RH:** ratio longitud-anchura de la hoja; **LC:** longitud del cáliz; **LDC:** longitud de los dientes del cáliz; **DP:** densidad de pelos en las hojas; **LP:** longitud de los pelos de las hojas.

Medidas en mm ± error estándar n = 30 muestras.

Misma letra entre valores de la misma línea indica que no hay diferencias estadísticas

Utilizando la matriz anterior como base de proceso se sometió a un análisis discriminante. De todas las funciones discriminantes propuestas se representa la Función 1 frente a la Función 2 (Figura 20), que absorben el 85% de la variabilidad, cuyas ecuaciones son las siguientes:

$$F_1 (\text{eje } x) = 1,06 * LH - 0,85 * AH - 0,34 * RH + 0,30 * LC - 0,22 * LDC + 0,48 * DP + 0,57 * LP$$

$$F_2 (\text{eje } y) = -1,07 * LH + 1,29 * AH + 0,28 * RH - 0,15 * LC - 0,04 * LDC + 0,30 * DP + 0,49 * LP$$

donde:

LH: longitud de hoja; AH: anchura de hoja; RH: ratio longitud-anchura de la hoja; LC: longitud del cáliz; LDC: longitud de los dientes del cáliz; DP: densidad de pelos en las hojas; LP: longitud de los pelos de las hojas.

El carácter longitud de la hoja es el de más peso en la F_1 debido a que su coeficiente discriminante es el mayor seguido de la anchura de la hoja, longitud de los pelos de las hojas y densidad de los pelos de las hojas. En la F_2 , la anchura de las hojas pasa a ser el carácter de más peso, seguido de la longitud de la hoja, longitud de los pelos de las hojas y densidad de pelos.

Los caracteres que menos aportan al proceso discriminante son en ambos casos el ratio longitud-anchura de las hojas, longitud del cáliz y la longitud de los dientes del cáliz.

Como resultado de estos análisis se observa en el diagrama de funciones discriminantes (Figura 20) una distribución de las distintas muestras estudiadas en cuatro grandes grupos (taxones específicos).

La especie *S. montana* aparece claramente separada del resto de especies, mientras que se observa la existencia de cierta afinidad morfológica entre la especie *S. cuneifolia* con las especies *S. intricata* y *S. innota*.

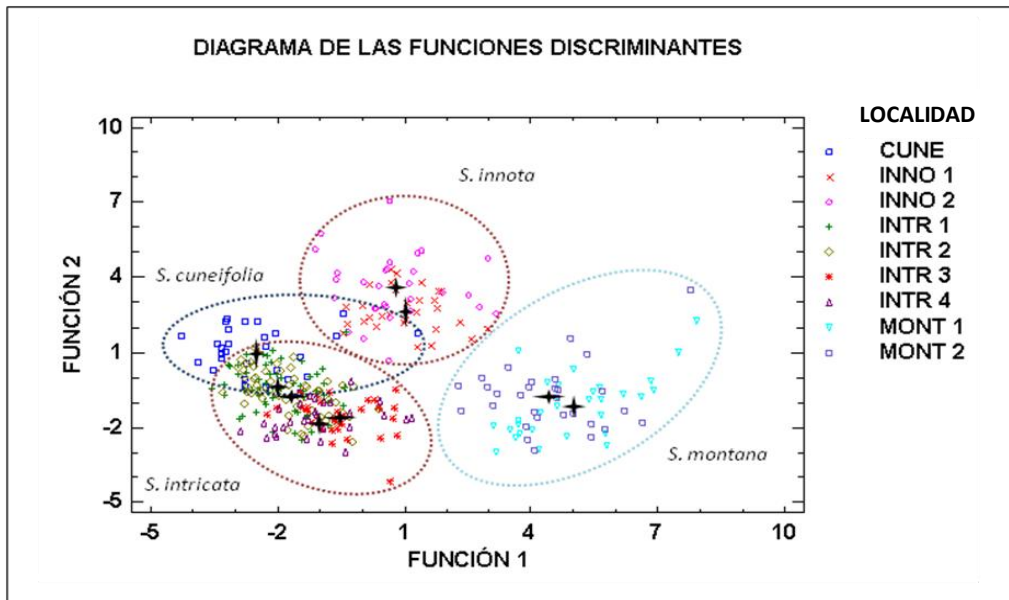


Figura 20. Diagrama de las funciones discriminantes. Taxonomía

CUNE: *S. cuneifolia* (Cullera); INNO 1: *S. innota* (Culla); INNO 2: *S. innota* (Sueras); INTR 1 y 2: *S. intricata* (Chiva); INTR 3 y 4: *S. intricata* (Navalón); MONT 1: *S. montana* (Culla); MONT 2: *S. montana* (Peñagolosa)

4.2. El medio físico

En el estudio del medio físico se analizó la caracterización edáfica por un lado y por otro la climática para posteriormente determinar la posible relación entre los diversos factores ecológicos y la composición de los aceites esenciales.

4.2.1. Características edáficas

Cinco de las nueve poblaciones estudiadas (las dos poblaciones de *S. montana*, MONT 1 y MONT 2; la población de *S. cuneifolia*, CUNE; una población de *S. innota*, INNO 1; y una población de *S. intricata*, INTR 1), poseen una clase textural franco arcillo arenosa (Tabla 5). La segunda población de *S. innota* (INNO 2), así como la población de *S. intricata* situada

en Chiva a mayor altitud (INTR 2), presentaron una textura franco arcillosa. Las muestras correspondientes a las dos poblaciones de Navalón mostraron una clase textural franca, en el caso de la población situada a menor altitud (INTR 3), y franco arenosa en la situada a mayor altitud (INTR 4).

La capacidad de campo (Tabla 5) de las muestras estudiadas varió entre el 37,83% (INTR 1) y el 50,00% (INTR 3). Todas las muestras analizadas tuvieron un pH moderadamente alcalino (Tabla 5), con valores que oscilaron entre 8,09 (población de *S. montana* de San Juan de Peñagolosa, MONT 2) y 8,58 (INNO 2).

Las localidades donde se encuentra *S. montana* presentaron un contenido alto en materia orgánica (Tabla 5), al igual que *S. cuneifolia*, la primera población de *S. innota* (INNO 1-Culla) y tres de las poblaciones de *S. intricata* (INTR 2, 3 y 4). La segunda población de *S. innota* presenta un contenido normal de materia orgánica. Destaca el bajo contenido en materia orgánica de la primera población de *S. intricata* (INTR 1-Chiva).

La primera población de *S. montana* (MONT 1, Culla), se desarrolla en un suelo con un contenido normal de carbonatos, mientras que en la segunda (MONT 2, Peñagolosa) fue alto. Ambas poblaciones presentaron un contenido bajo de caliza activa (Tabla 5). *S. cuneifolia* (CUNE) muestra un contenido normal tanto de carbonatos como de caliza activa. La población de *S. innota* de Culla (INNO 1) tuvo un contenido normal de carbonatos, mientras que la segunda (INNO 2-Sueras) fue alto. Ambas localidades presentaron un bajo contenido en caliza activa. Tres de las poblaciones de *S. intricata* presentan valores muy elevados de carbonatos (INTR 1 y las dos de Navalón, INTR 3 y 4), mientras que la población de Chiva situada a mayor altitud (INTR 2) mostró un contenido en carbonatos ligeramente alto, mucho menor que el resto de localidades de esta especie. La primera de las poblaciones de Chiva (INTR 1), que tenía un contenido en carbonatos elevado, presenta a su vez un valor normal de caliza activa, mientras que el resto de localidades mostraron un contenido bajo.

Los suelos en los que se encuentran poblaciones de *S. montana* (MONT 1 y 2) presentaron sustratos muy ligeramante salinos (Tabla 5). De los cationes solubles, el calcio fue el más abundante en ambos casos, seguido del sodio y en último lugar el potasio.

Lo mismo ocurrió en las localidades donde se desarrollan tanto *S. cuneifolia* (Cullera) como *S. innota* (Culla y Sueras). Las tres estaciones tienen sustratos muy ligeramente salinos, con valores moderados de los cationes calcio, seguido de nuevo por el sodio finalizando con el potasio.

Las poblaciones de *S. intricata* situadas en Chiva presentaron suelos de carácter ligeramente salino. Las plantas recolectadas en estas dos localidades se ubicaban en terrenos cercanos a plantaciones agrícolas, lo que explica estos elevados valores de conductividad tratándose de terrenos forestales. Por el contrario, las otras dos poblaciones de *S. intricata* (INTR 3 y 4-Navalón) habitan en suelos muy ligeramente salinos. Destaca la elevada cantidad del catión calcio en la primera localidad de *S. intricata* (INTR 1) en comparación con la segunda localidad de Chiva (INTR 2). Mayor uniformidad presentó este catión en las dos localidades de Navalón (INTR 3 y 4). Los valores de sodio y potasio fueron bastante homogéneos en las cuatro localidades.

Tabla 5: Determinaciones físico-químicas realizadas en los sustratos en los que crece *Satureja L.*

	% de arena	% limo	% arcilla	Clasificación USDA	CC %	pH	
MONT 1	60,37 ± 3,48	17,12 ± 2,37	22,52 ± 1,74	Franco arcillo arenosa	42,50 ± 2,36	8,37 ± 0,07	
MONT 2	68,27 ± 5,14	8,56 ± 0,66	23,18 ± 5,22	Franco arcillo arenosa	49,33 ± 16,05	8,09 ± 0,11	
CUNE	49,83 ± 3,48	20,41 ± 0,66	29,76 ± 2,87	Franco arcillo arenosa	43,67 ± 0,88	8,24 ± 0,06	
INNO 1	58,39 ± 1,74	17,78 ± 0,00	23,83 ± 1,74	Franco arcillo arenosa	45,00 ± 0,58	8,12 ± 0,03	
INNO 2	34,69 ± 3,67	30,28 ± 1,74	35,03 ± 1,97	Franco arcillosa	40,67 ± 2,33	8,58 ± 0,06	
INTR 1	45,88 ± 2,37	22,38 ± 1,74	31,73 ± 1,97	Franco arcillo arenosa	37,83 ± 0,44	8,26 ± 0,10	
INTR 2	43,31 ± 1,74	19,75 ± 2,28	36,94 ± 0,66	Franco arcillosa	41,00 ± 0,00	8,31 ± 0,11	
INTR 3	44,63 ± 5,14	40,82 ± 5,14	14,56 ± 0,00	Franca	50,00 ± 0,58	8,39 ± 0,04	
INTR 4	72,94 ± 1,32	13,17 ± 0,66	13,90 ± 0,66	Franco arenosa	40,33 ± 3,67	8,23 ± 0,06	

	MO %	CO ₃ Ca %	Cal activa %	CE _s (dS/m)	K ⁺ (meq/L)	Ca ²⁺ (meq/L)	Na ⁺ (meq/L)
MONT 1	6,26 ± 0,95	17,47 ± 3,64	4,40 ± 0,31	2,36 ± 0,09	4,62 ± 0,35	51,97 ± 6,69	23,01 ± 0,23
MONT 2	5,85 ± 3,17	23,98 ± 1,72	3,24 ± 0,30	2,84 ± 0,51	8,56 ± 3,24	73,02 ± 17,52	26,32 ± 3,24
CUNE	3,73 ± 0,53	18,95 ± 2,46	6,13 ± 0,12	2,15 ± 0,04	3,24 ± 0,60	42,20 ± 8,18	26,22 ± 1,40
INNO 1	3,15 ± 0,41	12,79 ± 4,72	3,25 ± 0,51	2,43 ± 0,17	5,33 ± 1,61	52,70 ± 1,13	26,12 ± 1,42
INNO 2	2,37 ± 0,94	22,45 ± 1,46	3,70 ± 0,31	2,30 ± 0,19	7,10 ± 1,78	35,52 ± 12,57	32,24 ± 0,20
INTR 1	0,57 ± 0,32	69,82 ± 3,11	8,68 ± 0,87	6,24 ± 2,99	7,08 ± 0,93	127,06 ± 32,74	34,92 ± 3,45
INTR 2	2,67 ± 0,38	20,31 ± 1,86	4,40 ± 0,31	4,46 ± 1,12	11,78 ± 2,52	39,26 ± 11,96	32,83 ± 1,07
INTR 3	5,11 ± 0,52	73,21 ± 3,39	2,21 ± 0,24	2,93 ± 0,23	14,70 ± 1,97	73,62 ± 5,39	28,44 ± 1,20
INTR 4	3,39 ± 0,62	66,65 ± 1,16	0,23 ± 0,02	3,60 ± 0,50	7,80 ± 1,77	91,25 ± 24,34	25,09 ± 1,00

MONT 1: *S. montana* (Culla); **MONT 2:** *S. montana* (Peñagolosa); **CUNE:** *S. cuneifolia* (Cullera); **INNO 1:** *S. innota* (Culla); **INNO 2:** *S. innota* (Sueras); **INTR 1 y 2:** *S. intricata* (Chiva); **INTR 3 y 4:** *S. intricata* (Navalón)

CC: Capacidad de campo; **MO:** Materia orgánica; **CO₃Ca:** Carbonato cálcico equivalente; **Cal activa:** Carbonato cálcico activo; **CE_s:** conductividad eléctrica. Muestras n=3.

4.2.2. Caracterización climática

Con objeto de completar el estudio de la ecología de los cuatro taxones de *Satureja* en la Península Ibérica, se aportan datos de temperatura y humedad relativa de las cuatro localidades donde se dispusieron estaciones microclimáticas: MONT 1, MONT 2, INNO 1 e INTR 2, entre el periodo comprendido entre junio de 2009 y mayo de 2010 (Anexo).

Se aportan además datos termopluviométricos de las estaciones próximas a las localidades donde se encuentran las poblaciones estudiadas (Anexo).

Los índices bioclimáticos (Tabla 6) fueron calculados con los datos de temperatura de las estaciones microclimáticas en las localidades donde se habilitaron (MONT 1, MONT 2, INNO 1, INTR 1 e INTR 2), utilizando datos históricos de las estaciones meteorológicas cercanas en el resto de localidades. Los datos pluviométricos se tomaron de dichas estaciones meteorológicas. El modo de calcular estos índices se recoge en el apartado 3.3.2. del capítulo de material y métodos.

Tabla 6: Índices bioclimáticos

ÍNDICE	MONT 1	MONT 2	CUNE	INNO 1	INNO 2	INTR 1	INTR 2	INTR 3	INTR 4
Ic	17,58	19,49	14,4	17,91	16,2	18,55	18,55	15,8	15,8
It	200,2	119,5	389	233,2	319	280,7	280,7	299	299
Itc	200,2	126,95	389	233,2	319	283,5	283,5	299	299
Tp	1479,3	1175,4	2062	1607,1	1878	1796	1796	1752	1752
Pp	748	748	576	748	506	498	498	516	516
Io	5,06	6,36	2,79	4,65	2,69	2,77	2,77	2,95	2,95

Ic: índice de continentalidad; It: índice de termicidad; Itc: índice de termicidad compensado; Tp: temperatura positiva anual; Pp: precipitación positiva; Io: índice ombrotérmico anual.

A través de los índices se persigue sintetizar y resumir aquellos parámetros considerados más importantes para la clasificación del clima. De acuerdo con ella, las localidades donde se recogió *S. intricata* (INTR 1, 2, 3 y 4), *S. cuneifolia* (CUNE) y la segunda población de *S. innota* (INNO 2) pertenecen al macrobioclima mediterráneo. Las dos poblaciones de *S. mon-*

tana (MONT 1 y 2), así como la primera población de *S. innota* (INNO 1) pertenece al macrobioclima templado

Los bioclimas de las zonas donde se localizan las poblaciones de *S. cuneifolia* (CUNE), *S. intricata* (INTR 1, 2, 3 y 4) y la segunda población de *S. innota* (INNO 2) son pluviestacional-oceánico. Las poblaciones de *S. montana* (MONT 1 y 2) y la primera población de *S. innota* (INNO 1) pertenecen al bioclima oceánico.

El termotipo de las poblaciones de Chiva (INTR 1 y 2), Navalón (INTR 3 y 4) y Sueras (INNO 2) es mesomediterráneo, superior para las poblaciones de Chiva, e inferior para las de Navalón y Sueras. La población de Cullera (CUNE) tiene, por su parte, un termotipo termomediterráneo superior. A la primera población de *S. montana* (MONT 1) y la primera población de *S. innota* (INNO 1) les corresponde el termotipo mesotemplado superior, mientras que a la segunda población de *S. montana* (MONT 2), le corresponde el supratemplado inferior.

Las poblaciones de Chiva (INTR 1 y 2), la población de Cullera (CUNE) y la de Sueras (INNO 2) tienen un ombrotipo seco inferior, mientras que las poblaciones de Navalón (INTR 3 y 4), presentan un ombrotipo seco superior. A la primera población de *S. montana* (MONT 1), le corresponde un ombrotipo subhúmedo superior, mientras que a la población de INNO 1 le corresponde un ombrotipo subhúmedo inferior. En el caso de la población de San Juan de Peñagolosa (MONT 2), le corresponde un ombrotipo húmedo inferior.

Las poblaciones de *S. montana* (MONT 1 y 2), así como la población de *S. innota* de Culla (INNO 1), crecen en el bioclima templado oceánico. El piso bioclimático en la primera población, MONT 1, es mesotemplado superior subhúmedo superior, mientras que en INNO 1 es mesotemplado superior subhúmedo inferior y en MONT 2 supratemplado inferior húmedo inferior. Las poblaciones MONT 1 e INNO 1 presentan una continentalidad de tipo semicontinental atenuado y la población MONT 2 semicontinental acusado. Por otro lado, la segunda población de *S. innota* (INNO 2) situada en Sueras, se encuentra en el bioclima mediterráneo pluviestacional-oceánico y piso bioclimático mesomediterráneo inferior seco, con una continentalidad tipo euoceánico atenuado.

El piso bioclimático en el que habitan las poblaciones de *S. intricata* analizadas en Chiva (INTR 1 y 2) es mesomediterráneo superior seco inferior, siendo el bioclima de la zona donde se encuentra mediterráneo pluviestacional-oceánico, con una continentalidad semicontinental atenuada. Las dos poblaciones de *S. intricata* de Navalón (INTR 3 y 4), se distribuyen a través del piso bioclimático mesomediterráneo inferior seco superior, con un bioclima mediterráneo pluviestacional-oceánico y una continentalidad euoceánica acusada.

La población de *S. cuneifolia* (CUNE), situada en Cullera, se encuentra en el piso bioclimático termomediterráneo superior seco inferior, siendo el bioclima mediterráneo pluviestacional-oceánico, con una continentalidad de tipo euoceánica acusada.

Las mayores diferencias térmicas se dan en la localidad de Chiva (estación meteorológica Siete Aguas, Tabla 42), con un mínimo de temperatura media en enero de 5.2°C, y un máximo en agosto de 22.8°C. La localidad que presenta una curva térmica más suave es Peñagolosa (estación meteorológica de Vistabella, Tabla 39), donde se registran temperaturas frías a lo largo de todo el año, con un mínimo en febrero de 2.0°C y un máximo en julio de 17.3°C.

Si comparamos las temperaturas medias máximas y mínimas absolutas registradas, de nuevo la mayor diferencia se da en Chiva (35°C y -4.9°C) (estación meteorológica de Siete Aguas, Tabla 42), y la menor en Navalón (33°C y -1.1°C) (estación meteorológica de Enguera, Tabla 43). Peñagolosa y Culla (estación meteorológica de Vistabella, Tabla 39) presentan tres meses (diciembre, enero y febrero) con temperaturas medias inferiores a 5°C, por lo que se producirá un período de parada vegetativa en este intervalo. También en estas localidades existe riesgo de helada segura en estos tres mismos meses, en los que la media de las temperaturas mínimas se encuentra por debajo de los 0°C (-1.1°C y -2.1°C).

Los diagramas bioclimáticos pertenecientes a cada una de las estaciones (Rivas-Martínez y Rivas-Sáenz, 2009) se muestran en las Figuras 21 (Vistabella), 22 (Cullera), 23 (Segorbe), 24 (Siete Aguas) y 25 (Enguera).

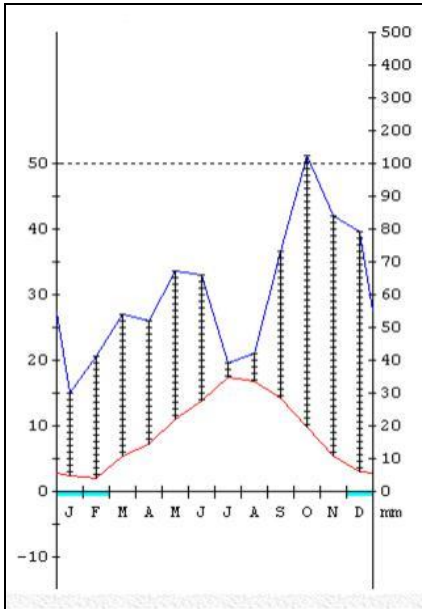


Figura 21: Diagrama bioclimático Vistabella

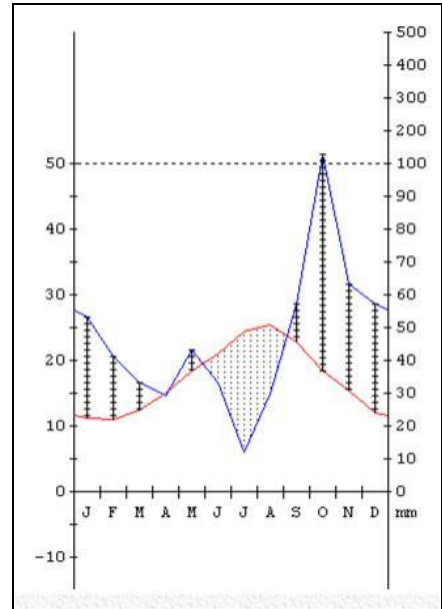


Figura 22: Diagrama bioclimático Cullera

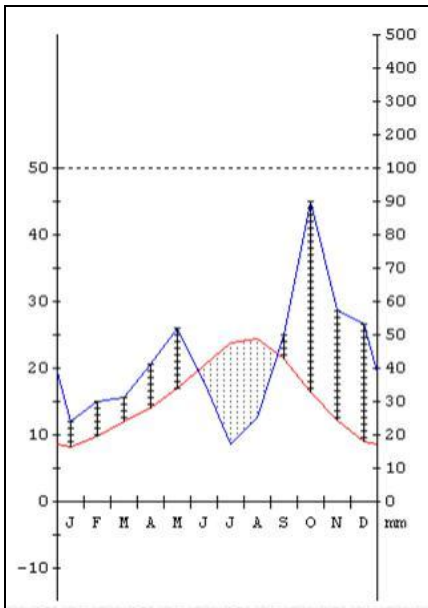


Figura 23: Diagrama bioclimático Segorbe

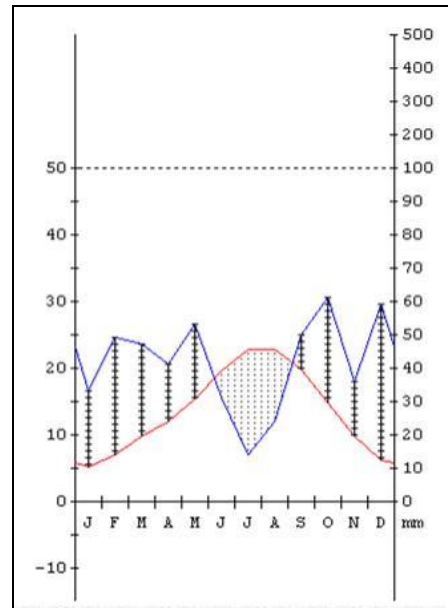


Figura 24: Diagrama bioclimático Siete Aguas

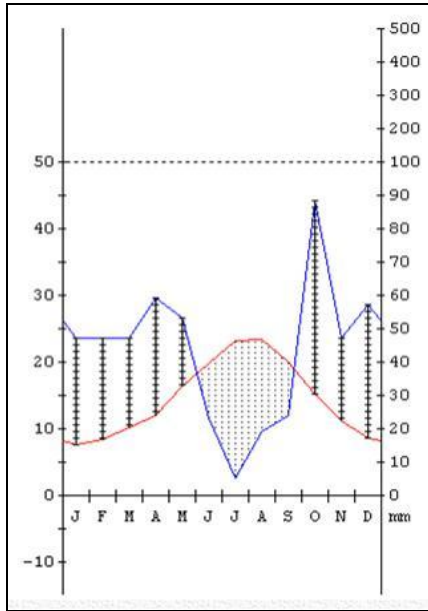


Figura 25: Diagrama bioclimático Enguera

4.3 Fitoquímica

Para llevar a cabo un estudio quimiotaxonómico de los distintos taxones realizamos un análisis de la composición cualitativa y cuantitativa de los aceites esenciales de las distintas poblaciones, determinando paralelamente su rendimiento, y a continuación un análisis estadístico de los resultados para determinar las posibles diferencias o relaciones entre las distintas poblaciones y épocas de muestreo.

4.3.1. Rendimiento en aceite esencial

Se determinó el rendimiento de las muestras recogidas en las distintas localidades y épocas. Los rendimientos vienen expresados en mL de aceite esencial por 100 g de planta (Tabla 7), agrupados según poblaciones y épocas de recolección de material vegetal. Los resultados se expresan como la media de los cuatro aceites esenciales obtenidos de cada muestra.

Siete de las nueve poblaciones estudiadas tienen el máximo rendimiento en las muestras recolectadas en junio, a excepción de la población de *S. innota* de Sueras (INNO 2) que lo tiene en septiembre y la de *S. intricata* de Navalón situada a mayor altitud (INTR 4), que presentan el mayor rendimiento en diciembre. Por otro lado, también siete de las poblaciones muestran el menor rendimiento en aceite esencial en marzo, salvo en el caso de la población de *S. innota* de Sueras (INNO 2), que tiene el menor rendimiento en diciembre y la población de *S. intricata* de Navalón situada a menor altitud (INTR 3), que lo tiene en septiembre.

Tabla 7: Rendimiento (referido a peso de planta fresca) de los aceites esenciales correspondientes a todas las poblaciones estudiadas.

CÓDIGO	TAXÓN	mL/100 g fresco			
		jun-09	sep-09	dic-09	mar-10
MONT 1	<i>S. montana</i>	0,85 ± 0,05	0,32 ± 0,10	0,22 ± 0,02	0,04 ± 0,01
MONT 2	<i>S. montana</i>	0,79 ± 0,01	0,26 ± 0,09	0,31 ± 0,03	0,07 ± 0,04
CUNE	<i>S. cuneifolia</i>	1,05 ± 0,13	0,62 ± 0,22	0,83 ± 0,03	0,61 ± 0,08
INNO 1	<i>S. innota</i>	0,35 ± 0,05	0,34 ± 0,05	0,21 ± 0,06	0,21 ± 0,01
INNO 2	<i>S. innota</i>	0,39 ± 0,09	0,42 ± 0,10	0,17 ± 0,05	0,23 ± 0,01
INTR 1	<i>S. intricata</i>	0,60 ± 0,07	0,33 ± 0,11	0,49 ± 0,04	0,29 ± 0,03
INTR 2	<i>S. intricata</i>	0,60 ± 0,08	0,45 ± 0,14	0,49 ± 0,04	0,24 ± 0,04
INTR 3	<i>S. intricata</i>	0,50 ± 0,04	0,31 ± 0,07	0,32 ± 0,06	0,36 ± 0,06
INTR 4	<i>S. intricata</i>	0,40 ± 0,09	0,46 ± 0,08	0,49 ± 0,01	0,32 ± 0,06

Promedio ± error estándar de 4 muestras para cada población y época de muestreo.

Destaca la especie *S. cuneifolia* (CUNE), que muestra el mayor el rendimiento en aceite esencial de todas las poblaciones estudiadas en todas las épocas de recogida, con un máximo en junio (comienzo de la floración) y un mínimo en marzo.

Ambas poblaciones de *S. montana* (MONT 1 y 2) presentan un comportamiento similar entre ellas, con un elevado contenido de aceite esencial en las muestras analizadas en junio, disminuyendo bruscamente en marzo, y con valores intermedios en septiembre y diciembre.

Las dos poblaciones de *S. innota* (INNO 1 y 2), también muestran un comportamiento parecido en cuanto a rendimiento de aceite esencial, mostrándose bastante uniforme a lo largo de todo el año. INNO 1 tiene un máximo en junio y un mínimo en diciembre y marzo, mientras que INNO 2 tiene el mayor rendimiento en septiembre y el menor en diciembre.

S. intricata también manifiesta un rendimiento en aceite esencial bastante uniforme entre las cuatro poblaciones. Tres de ellas (INTR 1, 2 y 3) tienen el máximo rendimiento en junio, mientras que INTR 4 (Navalón, 811

m) lo tiene en diciembre. El menor rendimiento se encuentra en las muestras analizadas en marzo para las poblaciones INTR 1, 2 y 4, mientras que INTR 3 (población de Navalón situada a 641 m) lo posee en septiembre.

4.3.2. Caracterización cuantitativa y cualitativa de los aceites esenciales

La aplicación de las distintas técnicas cromatográficas CG, CG/EM así como los índices de Kovats (IK/CG), permitieron determinar la composición cualitativa y cuantitativa de los aceites esenciales de *Satureja* en las poblaciones estudiadas.

Dado que el objetivo de este trabajo es determinar la variabilidad existente en el aceite esencial de cada población analizada, así como las relaciones filogenéticas entre las cuatro especies de *Satureja*, los datos se dispusieron según especies. Los compuestos identificados se clasificaron de acuerdo a grupos fitoquímicos. A continuación se describe la composición del aceite esencial de las poblaciones en estudio según especies.

4.3.2.1. Aceite esencial de *S. montana* L.

Ambas localidades de *S. montana*, MONT 1 y 2, mostraron una composición de aceite esencial similar a lo largo de todo el periodo estudiado (Tabla 8). En ambas localidades, junio fue la época en la que se identificaron más compuestos, con un total de 41 y 36, constituyendo el 99.38% y 99.73% del aceite esencial, respectivamente. Diciembre fue el muestreo en el que se determinaron menor número de componentes, con 30 y 26, disminuyendo asimismo el total del aceite esencial analizado en ambas poblaciones (93,79% en la localidad MONT 1 y 93,85% en la localidad MONT 2).

Tabla 8: Variación en la composición del aceite esencial de *S. montana* en las localidades de Culla y Peñagolosa

Compuesto	Tr	MONT 1				MONT 2				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Monoterpenos hidrocarbonados										
α -Tujeno	7,87	0,71 \pm 0,06	0,22 \pm 0,14	0,12 \pm 0,12	0,04 \pm 0,04	0,65 \pm 0,13	0,12 \pm 0,08	0,08 \pm 0,08	0,11 \pm 0,07	933
α -Pino	8,18	0,42 \pm 0,04	0,13 \pm 0,10	0,15 \pm 0,15	0,07 \pm 0,07	0,32 \pm 0,07	0,08 \pm 0,08	0,19 \pm 0,12	0,21 \pm 0,13	941
Canfeno	8,86	0,27 \pm 0,03	0,11 \pm 0,08	0,22 \pm 0,22	0,12 \pm 0,12	0,14 \pm 0,02	0,14 \pm 0,07	0,39 \pm 0,20	0,60 \pm 0,30	958
Sabineno	9,80	0,08 \pm 0,00	0,04 \pm 0,40	-	0,02 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01	-	-	-	979
β -Pino	9,85	0,12 \pm 0,01	0,04 \pm 0,40	0,04 \pm 0,04	-	0,10 \pm 0,01	0,03 \pm 0,03	-	0,02 \pm 0,02	980
Mirceno	10,55	1,45 \pm 0,04	0,80 \pm 0,38	0,18 \pm 0,18	0,17 \pm 0,11	1,44 \pm 0,16	0,48 \pm 0,29	0,25 \pm 0,08	0,16 \pm 0,10	995
α -Felandreno	10,94	0,18 \pm 0,00	0,07 \pm 0,04	-	-	0,17 \pm 0,02	-	-	-	1010
δ -3-Careno	11,07	0,06 \pm 0,00	-	-	-	0,04 \pm 0,00	-	-	-	1013
α -Terpineno	11,74	1,75 \pm 0,01	0,95 \pm 0,42	1,34 \pm 1,14	0,20 \pm 0,12	1,92 \pm 0,22	0,37 \pm 0,24	0,12 \pm 0,10	0,12 \pm 0,07	1024
<i>p</i> -Cimeno	12,20	3,23 \pm 0,11	7,24 \pm 2,54	12,13 \pm 7,00	17,20 \pm 7,61	2,81 \pm 0,27	8,57 \pm 2,97	39,27 \pm 1,62	35,97 \pm 11,07	1035
Limoneno	12,39	0,36 \pm 0,00	0,23 \pm 0,14	0,10 \pm 0,03	0,14 \pm 0,08	0,30 \pm 0,07	0,08 \pm 0,06	0,24 \pm 0,09	0,38 \pm 0,20	1039
<i>cis</i> -Ocimeno	12,65	0,16 \pm 0,04	0,16 \pm 0,14	-	-	0,67 \pm 0,19	0,11 \pm 0,11	-	-	1044
<i>trans</i> -Ocimeno	13,12	0,11 \pm 0,01	0,05 \pm 0,05	-	-	0,28 \pm 0,06	-	-	-	1054
γ -Terpineno	13,74	16,06 \pm 0,39	7,83 \pm 3,11	1,59 \pm 0,92	1,85 \pm 0,94	18,74 \pm 2,10	5,35 \pm 2,68	2,99 \pm 0,54	1,66 \pm 0,59	1068
Terpinoleno	14,93	0,07 \pm 0,00	0,05 \pm 0,03	-	-	0,06 \pm 0,00	-	-	0,06 \pm 0,06	1091
Total		25,01 \pm 0,46	17,92 \pm 7,03	15,75 \pm 8,15	19,81 \pm 8,97	27,75 \pm 3,09	15,33 \pm 6,57	43,53 \pm 2,30	39,29 \pm 12,35	
Monoterpenos oxigenados										
1,8-Cineol	12,51	0,19 \pm 0,01	0,27 \pm 0,11	0,30 \pm 0,12	0,20 \pm 0,11	0,19 \pm 0,01	0,12 \pm 0,08	0,62 \pm 0,12	0,31 \pm 0,11	1041
Hidrato de <i>cis</i> -Sabineno	14,37	0,44 \pm 0,01	0,72 \pm 0,06	0,91 \pm 0,13	0,65 \pm 0,13	0,48 \pm 0,04	0,39 \pm 0,18	1,30 \pm 0,15	1,00 \pm 0,32	1080
Linalol	16,05	1,34 \pm 0,08	1,06 \pm 0,24	0,59 \pm 0,26	2,62 \pm 0,71	0,45 \pm 0,06	0,35 \pm 0,17	0,50 \pm 0,07	0,84 \pm 0,33	1114
Alcanfor	18,16	-	-	-	0,37 \pm 0,05	-	-	0,34 \pm 0,13	0,68 \pm 0,11	1161
Borneol	19,33	1,13 \pm 0,12	1,55 \pm 0,19	2,62 \pm 0,47	4,59 \pm 0,67	0,69 \pm 0,10	2,26 \pm 0,48	5,27 \pm 0,58	6,85 \pm 0,51	1185
Terpinen-4-ol	19,61	0,40 \pm 0,02	0,65 \pm 0,09	0,81 \pm 0,13	0,99 \pm 0,11	0,40 \pm 0,01	0,51 \pm 0,17	1,15 \pm 0,15	0,79 \pm 0,14	1190
<i>p</i> -Cimen-8-ol	19,91	-	-	-	1,59 \pm 0,23	-	-	-	1,82 \pm 0,28	1200

Tabla 8: Continuación monoterpenos oxigenados

Compuesto	Tr	MONT 1				MONT 2				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Monoterpenos oxigenados										
α -Terpineol	20,31	-	-	0,04 \pm 0,04	0,08 \pm 0,04	-	-	1,53 \pm 0,53	0,10 \pm 0,06	1204
Neral	21,89	-	-	-	0,66 \pm 0,22	-	-	-	-	1249
Carvacrol metil éter	22,75	0,04 \pm 0,01	0,24 \pm 0,22	0,33 \pm 0,12	-	0,75 \pm 0,26	1,24 \pm 0,32	2,82 \pm 0,70	2,22 \pm 1,05	1266
Geraniol	22,83	-	-	1,53 \pm 0,91	0,71 \pm 0,24	-	-	2,68 \pm 0,63	1,15 \pm 0,30	1261
Acetato de Bornilo	24,16	-	-	-	-	0,16 \pm 0,14	-	-	-	1291
Timol	24,16	1,54 \pm 1,36	-	0,68 \pm 0,68	2,43 \pm 1,17	1,34 \pm 0,33	2,27 \pm 2,10	-	3,28 \pm 2,21	1291
Carvacrol	24,77	61,38 \pm 0,61	67,95 \pm 6,79	61,59 \pm 6,45	43,82 \pm 4,69	58,35 \pm 2,99	58,34 \pm 4,1	21,37 \pm 2,19	21,96 \pm 6,49	1304
Acetato de Timilo	26,66	0,04 \pm 0,04	-	-	-	0,02 \pm 0,02	-	-	-	1356
Acetato de Carvacrilo	27,49	1,91 \pm 0,08	0,74 \pm 0,13	-	-	0,58 \pm 0,10	0,07 \pm 0,04	-	-	1375
Total		68,08 \pm 0,77	73,18 \pm 6,75	69,40 \pm 6,35	58,71 \pm 3,79	63,25 \pm 3,16	65,55 \pm 4,14	37,58 \pm 1,30	41,00 \pm 7,90	
Sesquiterpenos hidrocarbonados										
β -Bourboneno	28,29	0,02 \pm 0,01	-	-	-	-	-	-	-	1387
β -Cariofileno	29,93	2,81 \pm 0,09	2,46 \pm 0,43	1,80 \pm 0,24	2,48 \pm 0,31	5,12 \pm 0,31	7,80 \pm 0,73	3,19 \pm 0,70	3,20 \pm 0,67	1427
Aromandreno	30,26	0,11 \pm 0,02	0,26 \pm 0,09	0,36 \pm 0,07	0,67 \pm 0,15	-	0,10 \pm 0,10	0,38 \pm 0,13	0,51 \pm 0,09	1442
α -Humuleno	31,25	0,10 \pm 0,00	0,01 \pm 0,01	-	-	0,19 \pm 0,01	0,24 \pm 0,03	-	-	1460
<i>allo</i> -Aromadendreno	31,45	0,05 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02	0,14 \pm 0,05	0,03 \pm 0,03	0,02 \pm 0,02	0,04 \pm 0,04	-	-	1465
Germacreno D	32,33	0,58 \pm 0,08	1,32 \pm 0,13	0,29 \pm 0,18	0,05 \pm 0,05	0,67 \pm 0,10	0,19 \pm 0,08	-	-	1486
β -Selineno	32,71	-	-	-	0,10 \pm 0,06	-	-	-	-	1489
Biciclogermacreno	32,99	1,21 \pm 0,25	0,60 \pm 0,14	0,32 \pm 0,16	0,09 \pm 0,09	1,34 \pm 0,21	0,37 \pm 0,16	-	-	1502
β -Bisaboleno	33,02	0,49 \pm 0,10	0,89 \pm 0,12	0,95 \pm 0,21	0,74 \pm 0,12	0,71 \pm 0,09	1,19 \pm 0,30	0,12 \pm 0,12	0,67 \pm 0,20	1505
γ -Cadineno	33,35	0,01 \pm 0,01	0,02 \pm 0,02	-	0,19 \pm 0,07	-	0,08 \pm 0,05	0,05 \pm 0,05	-	1512
δ -Cadineno	33,79	0,04 \pm 0,01	0,21 \pm 0,03	-	0,21 \pm 0,07	-	0,28 \pm 0,06	0,05 \pm 0,05	-	1524
Total		5,40 \pm 0,34	5,79 \pm 0,44	3,86 \pm 0,66	4,56 \pm 0,74	8,04 \pm 0,48	10,29 \pm 0,97	3,79 \pm 0,82	4,38 \pm 0,86	

4. RESULTADOS

Tabla 8: Continuación sesquiterpenos oxigenados

Compuesto	Tr	MONT 1				MONT 2				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Sesquiterpenos oxigenados										
Espatulenol	36,33	0,34 ± 0,06	0,82 ± 0,10	0,95 ± 0,20	0,87 ± 0,21	0,21 ± 0,04	1,61 ± 0,27	0,26 ± 0,26	1,06 ± 0,41	1590
Óxido de Cariofileno	36,42	0,15 ± 0,00	0,77 ± 0,29	3,32 ± 0,53	6,42 ± 1,97	0,17 ± 0,01	3,21 ± 0,74	8,31 ± 1,02	7,53 ± 1,72	1592
Viridiflorol	36,53	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,03	0,06 ± 0,06	0,07 ± 0,07	-	0,06 ± 0,06	-	0,11 ± 0,11	1595
Cariofila-4(14), 8(15)-dien-5-ol	38,27	-	-	-	0,19 ± 0,12	-	0,13 ± 0,08	-	0,33 ± 0,13	1643
<i>epi</i> - α -Muurolol	38,66	0,02 ± 0,02	-	-	-	-	-	-	-	1654
α -Cadinol	39,10	-	-	0,21 ± 0,12	1,91 ± 0,75	-	0,03 ± 0,03	-	0,20 ± 0,09	1666
Shiobunol	40,16	0,01 ± 0,01	-	-	-	0,07 ± 0,01	-	-	-	1688
Total		0,57 ± 0,08	1,62 ± 0,12	4,54 ± 0,77	9,46 ± 3,02	0,45 ± 0,06	5,05 ± 0,98	8,57 ± 0,83	9,23 ± 2,29	
Otros										
Octen-3-ol	10,27	0,32 ± 0,03	0,3 ± 0,12	0,24 ± 0,11	0,22 ± 0,11	0,24 ± 0,02	0,11 ± 0,07	0,38 ± 0,04	0,11 ± 0,04	989
TOTAL		99,38	98,81	93,79	92,76	99,73	96,33	93,85	94,01	

Promedio \pm error estándar de 4 muestras para cada población y época de muestreo.

Tr: tiempo de retención CG; IK: índice de Kovats

En la primera localidad de *S. montana* (MONT 1), la variabilidad temporal de los monoterpenos hidrocarbonados no resultó estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$). Se observó un descenso tanto cualitativo como cuantitativo de los compuestos monoterpenos hidrocarbonados del mes de junio al resto de épocas de recogida, sin llegar a ser significativo (Figura 26). En todas las muestras recolectadas en esta población, los monoterpenos hidrocarbonados mayoritarios fueron γ -terpineno y *p*-cimeno. A pesar de la gran variabilidad observada a lo largo del año en la proporción del compuesto *p*-cimeno, dicha variación no resultó significativa en esta población ($P \leq 0,05$), incrementándose la proporción de este compuesto desde 3,23%, en junio, hasta un 17,2% en marzo. El componente γ -terpineno disminuyó considerablemente en las muestras recogidas en diciembre y marzo con respecto a las recolectadas en junio y septiembre (Figura 27).

Los monoterpenos oxigenados tampoco presentaron una variabilidad estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$) (Figura 26), oscilando desde 73,18% en el aceite esencial del muestreo realizado en el mes de septiembre hasta 58,71% en marzo. No obstante, desde el punto de vista cualitativo, marzo fue el más destacado con un total de 12 compuestos determinados y en último lugar el de septiembre, con 8 componentes identificados, coincidiendo con el momento de mayor importancia cuantitativa. Esto es debido fundamentalmente al monoterpeno oxigenado carvacrol, que fue el componente mayoritario en esta población a lo largo de todo el año, manteniéndose uniforme en junio, septiembre y diciembre, y disminuyendo significativamente en marzo (Figura 27).

Los sesquiterpenos hidrocarbonados, aunque de menor importancia cualitativa y cuantitativa, sí presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) entre las muestras de septiembre y diciembre, con valores intermedios en el resto del año (Figura 26). En este grupo, el compuesto de mayor importancia fue β -cariofileno. También tuvo poca importancia relativa la fracción de los sesquiterpenos oxigenados, con el compuesto óxido de cariofileno y espatulenol como los mayoritarios en esta fracción.

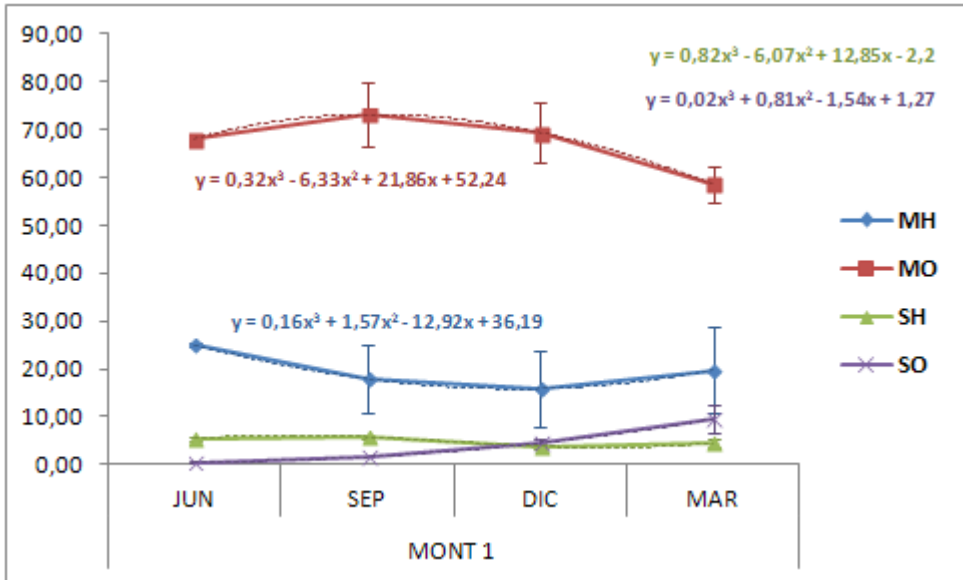


Figura 26: Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de *S. montana* en la localidad MONT 1.

MH: monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados.

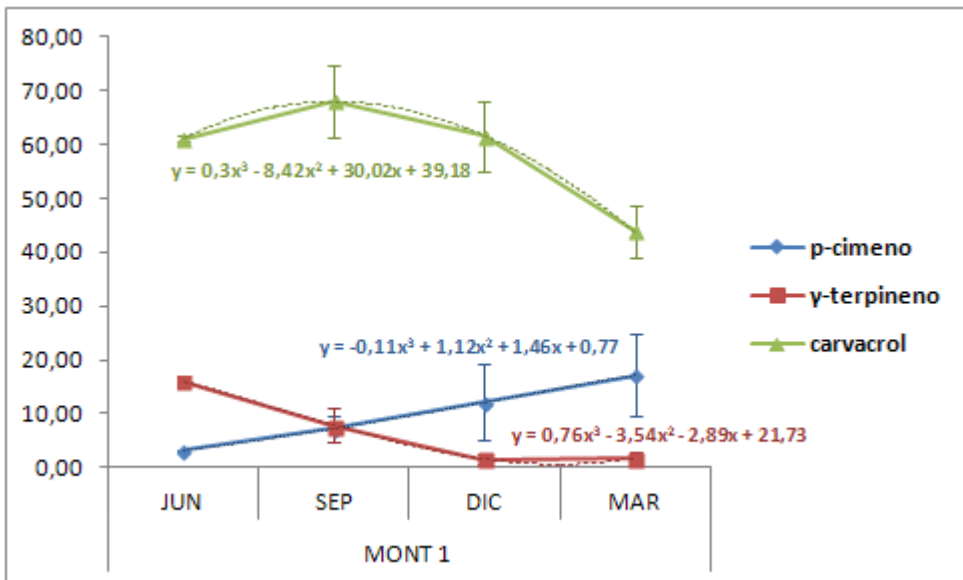


Figura 27: Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *S. montana* en la localidad MONT 1.

La segunda localidad de *S. montana*, MONT 2, situada en San Juan de Peñagolosa, presentó una mayor variabilidad temporal en la composición de su aceite esencial. Los compuestos monoterpenos hidrocarbonados presentaron una variabilidad estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$) a lo largo del período de estudio, con un mínimo en el total de estas sustancias en el mes de septiembre, incrementándose significativamente en los meses de marzo y diciembre (Figura 28). Esto fue debido fundamentalmente al incremento significativo del compuesto *p*-cimeno en los meses de diciembre y marzo (Figura 29) con respecto a los otros meses. En estos dos meses este compuesto pasó a ser el mayoritario en el aceite esencial. Es importante destacar también la variabilidad observada en el compuesto γ -terpineno, que llegó alcanzar un máximo en junio, siendo uniforme y de mucha menor importancia en el resto de muestras estudiadas (Figura 29).

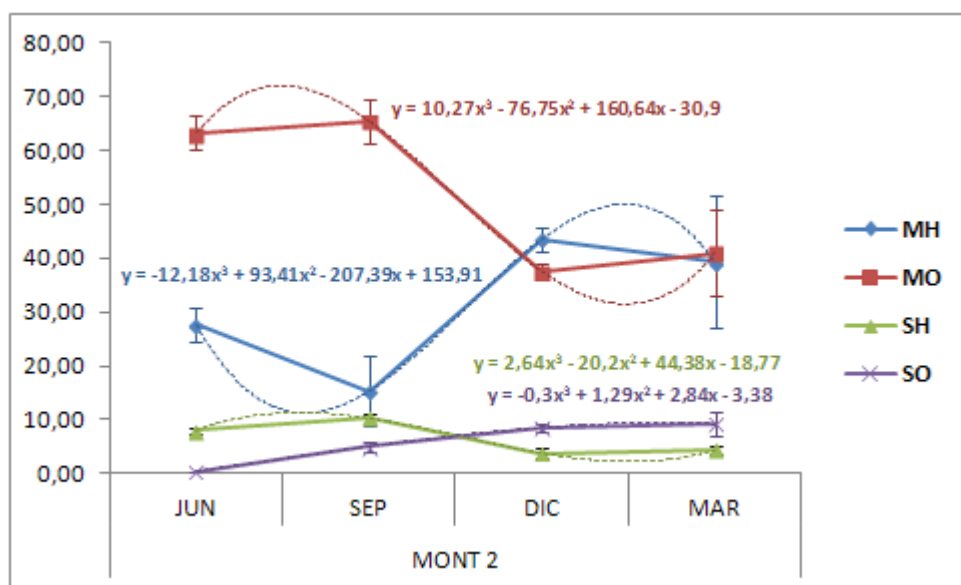


Figura 28: Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de *S. montana* en la localidad MONT 2.

MH: monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados.

La fracción monoterpénica oxigenada (Figura 28) también mostró una variabilidad temporal estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$), asemejándose por un lado los meses de junio y septiembre y por otro lado los meses de diciembre y marzo. El compuesto carvacrol fue el responsable de esta variación, mostrando uniformidad en su proporción en junio y septiembre por una parte, donde fue el compuesto mayoritario de esta población, y por otra en diciembre y marzo (Figura 29), donde pasó a ser el segundo compuesto en importancia por detrás del *p*-cimeno.

Nuevamente los compuestos sesquiterpénicos tanto hidrocarbonados como oxigenados fueron los de menor importancia, destacando en los primeros el compuesto β -cariofileno y entre los segundos el óxido de cariofileno y el espatulenol.

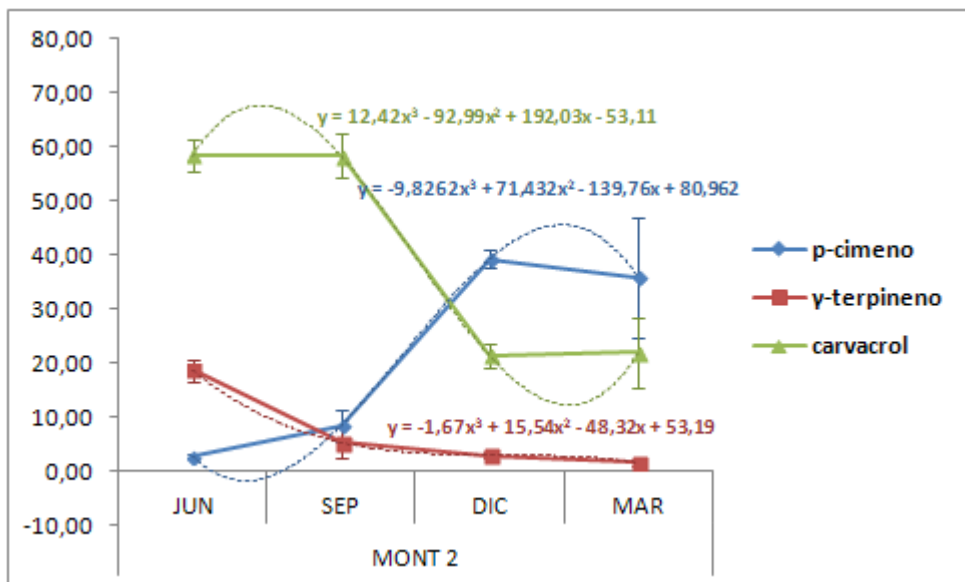


Figura 29: Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *S. montana* en la localidad MONT 2.

4.3.2.2. Aceite esencial de *S. cuneifolia* Ten.

El aceite esencial de *S. cuneifolia* en el área de Cullera (Tabla 9) mostró una gran uniformidad a lo largo de toda la época de estudio, sin mostrar diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en ninguna de las fracciones terpénicas estudiadas (Figura 30). El aceite esencial de junio, correspondiente al periodo de floración, fue en el que se determinó nuevamente mayor número de compuestos y mayor porcentaje del aceite esencial identificado, mientras que septiembre fue la época en que se registraron menos y en menor proporción.

La uniformidad mostrada en la fracción monoterpénica hidrocarbonada a lo largo del año (Figura 30), vino marcada por la homogeneidad manifiesta en los componentes de dicha fracción tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, como es el caso del compuesto mayoritario de esta fracción, canfeno (Figura 31).

Los monoterpenos oxigenados fueron los de mayor importancia cuantitativa a lo largo de todo el periodo de estudio. Se produjo una escasa variabilidad entre las distintas épocas de recolección, sin significación estadística. El compuesto alcanfor, mayoritario del aceite esencial, sí que varió significativamente, alcanzando un máximo en las muestras recogidas en junio y un mínimo en diciembre, con valores intermedios en los meses de septiembre y marzo (Figura 31).

Tanto la fracción sesquiterpénica hidrocarbonada como la oxigenada, fueron de menor importancia, sin diferencias significativas en cada fracción a lo largo del año (Figura 30). En los sesquiterpenos hidrocarbonados, los compuestos β -cariofileno, germacreno D y biciclogermacreno fueron los únicos que pasaron de un 1% del total del aceite analizado. Los sesquiterpenos oxigenados fueron la fracción de menor importancia cualitativa y cuantitativa en el aceite esencial (Tabla 9).

Tabla 9: Variación en la composición del aceite esencial de *S. cuneifolia* en la localidad de Cullera

Compuesto	Tr	CUNE				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Monoterpenos hidrocarbonados						
Triciclono	7,73	0,35 ± 0,08	0,44 ± 0,16	0,41 ± 0,06	0,35 ± 0,05	929
α-Tujeno	7,87	0,42 ± 0,08	0,50 ± 0,17	0,31 ± 0,13	0,26 ± 0,03	933
α-Pineno	8,18	6,40 ± 1,24	6,25 ± 1,80	7,11 ± 0,53	5,17 ± 0,56	941
Canfeno	8,86	12,42 ± 1,71	10,11 ± 2,49	10,91 ± 0,85	11,51 ± 1,21	958
Sabineno	9,80	0,60 ± 0,04	0,47 ± 0,17	0,86 ± 0,08	0,50 ± 0,07	979
β-Pineno	9,85	1,49 ± 0,20	2,28 ± 0,69	2,53 ± 0,14	1,29 ± 0,16	980
Mirceno	10,55	1,78 ± 0,19	1,01 ± 0,34	1,90 ± 0,23	2,28 ± 0,31	995
α-Felandreno	10,94	0,02 ± 0,02	-	-	-	1010
δ-3-Careno	11,07	0,03 ± 0,01	-	-	-	1013
α-Terpineno	11,74	1,02 ± 0,11	0,72 ± 0,13	1,38 ± 0,13	0,80 ± 0,09	1024
p-Cimeno	12,20	1,24 ± 0,07	1,44 ± 0,52	2,41 ± 0,32	2,28 ± 0,39	1035
Limoneno	12,39	3,08 ± 0,45	3,20 ± 0,92	3,25 ± 0,76	2,84 ± 0,46	1039
cis-Ocimeno	12,65	0,58 ± 0,07	0,11 ± 0,06	0,72 ± 0,08	1,44 ± 0,31	1044
trans-Ocimeno	13,12	0,37 ± 0,03	0,06 ± 0,04	0,43 ± 0,03	0,83 ± 0,11	1054
γ-Terpineno	13,74	2,16 ± 0,17	2,18 ± 0,55	3,74 ± 0,43	2,77 ± 0,39	1068
Terpinoleno	14,93	0,56 ± 0,05	0,40 ± 0,09	0,64 ± 0,05	0,32 ± 0,05	1091
Total		32,49 ± 3,78	29,17 ± 7,47	36,6 ± 1,56	32,64 ± 1,72	
Monoterpenos oxigenados						
1,8-Cineol	12,51	0,08 ± 0,04	0,08 ± 0,05	2,13 ± 1,16	0,11 ± 0,05	1041
Hidrato de cis-Sabineno	14,37	1,07 ± 0,32	0,53 ± 0,19	1,28 ± 0,21	0,96 ± 0,21	1080
Hidrato de trans-Sabineno	15,83	2,95 ± 0,45	-	-	2,13 ± 0,74	1109
Linalol	16,05	-	0,89 ± 0,40	0,18 ± 0,05	-	1114
Alcanfor	18,16	45,04 ± 1,67	40,48 ± 1,94	35,97 ± 1,48	42,17 ± 2,95	1161
Borneol	19,33	1,25 ± 0,19	0,39 ± 0,29	0,09 ± 0,04	2,16 ± 0,76	1185
Terpinen-4-ol	19,61	5,91 ± 0,49	6,62 ± 2,70	2,79 ± 1,11	4,10 ± 0,09	1190
p-Cimen-8-ol	19,91	0,12 ± 0,02	4,48 ± 1,14	6,27 ± 1,04	1,51 ± 1,24	1200
α-Terpineol	20,31	1,26 ± 0,32	1,06 ± 0,31	1,83 ± 1,60	0,80 ± 0,32	1204
cis-Piperitol	20,33	0,25 ± 0,00	0,22 ± 0,08	-	0,67 ± 0,54	1212
trans-Piperitol	21,45	0,08 ± 0,00	0,21 ± 0,04	0,51 ± 0,26	0,10 ± 0,02	1232
Nerol	21,34	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,03	0,08 ± 0,01	-	1235
Carvacrol metil éter	22,75	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,02	-	-	1266
Geraniol	22,83	0,12 ± 0,12	-	-	-	1261
Acetato de Bornilo	24,16	0,15 ± 0,03	0,47 ± 0,14	0,23 ± 0,02	0,23 ± 0,03	1291
Timol	24,16	-	-	0,18 ± 0,07	0,36 ± 0,16	1291
Carvacrol	24,77	0,01 ± 0,01	0,41 ± 0,35	0,36 ± 0,11	0,61 ± 0,18	1304
Acetato de Carvacrilo	27,49	-	-	0,04 ± 0,02	-	1375
Total		58,31 ± 2,90	55,89 ± 1,72	51,94 ± 0,99	55,91 ± 2,61	
Sesquiterpenos hidrocarbonados						
α-Copaeno	27,94	0,03 ± 0,02	-	-	0,08 ± 0,01	1379
β-Bourboneno	28,29	0,27 ± 0,05	0,37 ± 0,09	0,37 ± 0,01	0,33 ± 0,04	1387

Tabla 9: Continuación sesquiterpenos hidrocarbonados

Compuesto	Tr	CUNE				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Sesquiterpenos hidrocarbonados						
β-Elemeno	28,57	-	-	-	0,01 ± 0,01	1393
β-Cariofileno	29,93	1,89 ± 0,04	2,15 ± 0,61	2,27 ± 0,43	2,34 ± 0,31	1427
α-Humuleno	31,25	-	-	0,05 ± 0,03	0,03 ± 0,02	1460
<i>allo</i> -Aromadendreno	31,45	0,07 ± 0,00	-	-	0,06 ± 0,02	1465
Germacreno D	32,33	0,95 ± 0,16	1,51 ± 0,66	1,34 ± 0,13	1,65 ± 0,36	1486
β-Selineno	32,71	-	-	-	0,01 ± 0,01	1489
Biciclogermacreno	32,99	2,86 ± 0,48	2,37 ± 1,62	2,59 ± 0,45	2,88 ± 0,63	1502
γ-Cadineno	33,35	0,03 ± 0,02	-	0,03 ± 0,02	0,05 ± 0,02	1512
δ-Cadineno	33,79	0,25 ± 0,06	0,35 ± 0,17	0,21 ± 0,03	0,34 ± 0,10	1524
Total		6,35 ± 0,68	6,75 ± 2,48	6,86 ± 0,96	7,78 ± 1,43	
Sesquiterpenos oxigenados						
Espatuleno	36,33	0,72 ± 0,15	2,31 ± 1,62	1,12 ± 0,19	0,94 ± 0,22	1590
Óxido de Cariofileno	36,42	0,32 ± 0,05	1,12 ± 0,81	0,30 ± 0,02	0,37 ± 0,05	1592
Viridiflorol	36,53	0,16 ± 0,05	0,64 ± 0,41	0,35 ± 0,04	0,26 ± 0,04	1595
Cariofila-4(14), 8(15)-dien-5-ol	38,27	0,10 ± 0,01	0,31 ± 0,22	0,10 ± 0,04	0,06 ± 0,02	1643
<i>epi</i> -α-Muurolol	38,66	0,05 ± 0,03	0,10 ± 0,07	0,02 ± 0,02	-	1654
α-Muurolol	38,75	0,07 ± 0,03	0,10 ± 0,08	0,04 ± 0,02	0,09 ± 0,03	1657
α-Cadinol	39,10	0,31 ± 0,10	0,46 ± 0,27	0,28 ± 0,05	0,44 ± 0,15	1666
Germacra-4(15),5, 10(14)-trien-1-α-ol	39,84	0,04 ± 0,02	-	-	-	1685
Shiobunol	40,16	0,01 ± 0,01	0,04 ± 0,04	0,04 ± 0,02	-	1688
Total		1,77 ± 0,34	5,08 ± 3,52	2,25 ± 0,4	2,16 ± 0,41	
Otros						
Octen-3-ol	10,27	0,18 ± 0,02	0,28 ± 0,12	0,39 ± 0,09	0,19 ± 0,02	989
TOTAL		99,1	97,17	98,04	98,68	

Promedio ± error estándar de 4 muestras para cada población y época de muestreo.

Tr: tiempo de retención CG; IK: índice de Kovats

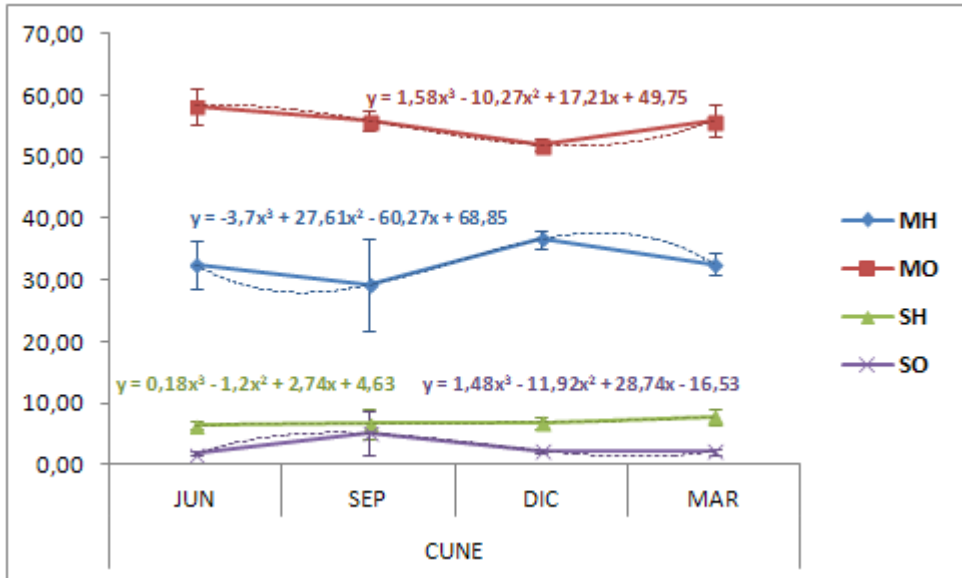


Figura 30: Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de *S. cuneifolia*.

MH: monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sequiterpenos oxigenados.

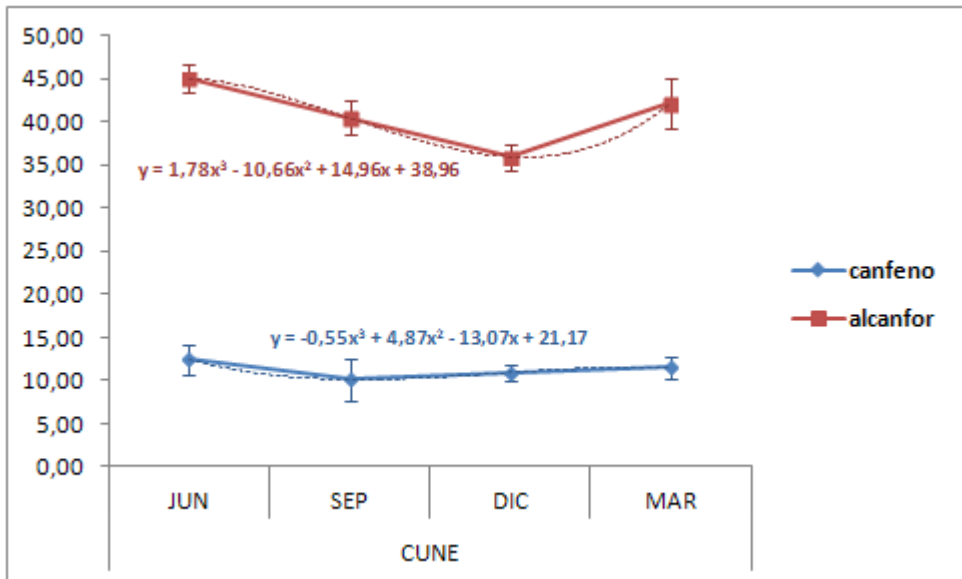


Figura 31: Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *S. cuneifolia*.

4.3.2.3. Aceite esencial de *S. innota* (Pau) G. López

Se encontraron diferencias importantes en la composición del aceite esencial entre las dos localidades de *S. innota* (Tabla 10). En ambas poblaciones se identificaron mayor número y cantidad de componentes en junio. En la primera población (INNO 1-Culla), diciembre (cuantitativamente) y marzo (cualitativamente) fueron las épocas de menor trascendencia. Por su parte, en la segunda población de *S. innota* (INNO 2-Sueras) diciembre fue la de menor importancia cualitativa y cuantitativa.

En el aceite esencial de la primera localidad (INNO 1), la variación temporal de los compuestos monoterpenos hidrocarbónicos fue estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$) entre los meses de junio-septiembre y marzo (Figura 32). Esto se debió fundamentalmente a la disminución significativa del compuesto mirceno en estos dos meses con respecto a marzo (Figura 33). Cualitativamente, el número de componentes identificados en este grupo se mantuvo bastante estable, con 13 compuestos en junio y septiembre, y 12 en diciembre y marzo.

La fracción monoterpénica oxigenada también registró una variabilidad estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$) entre los meses de junio y diciembre (Figura 32). Dentro de este grupo, el compuesto linalol fue el mayoritario de este aceite en los meses de junio y septiembre, a pesar de que se produjo un descenso significativo del mismo (Figura 33). En los meses de diciembre y marzo la proporción de este compuesto siguió descendiendo, aunque sin presentar diferencias significativas con el mes de septiembre. En las muestras recogidas en marzo, el alcanfor pasó a ser el compuesto mayoritario, debido al aumento significativo en este mes del mismo (Figura 33). De la misma manera, los compuestos sesquiterpénicos hidrocarbonados variaron significativamente entre los meses de diciembre y marzo, con valores intermedios en junio y septiembre (Figura 32). El principal compuesto causante de esta variación fue el β -cariofileno, que llegó a ser el componente mayoritario del aceite en diciembre, disminuyendo en los otros periodos de estudio. También el compuesto biciclogermacreno modificó su proporción significativamente teniendo un máximo en diciembre y un mínimo en marzo. Por su parte, en el grupo de los sesquiterpenos oxigenados destacaron los compuestos espátulenol, óxido de cariofileno, α -cadinol y shiobunol.

Tabla 10: Variación en la composición del aceite esencial de *S. innota* en en las localidades de Culla y Sueras

Compuesto	Tr	INNO 1				INNO 2				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Monoterpenos hidrocarbonados										
Triciclono	7,73	-	0,04 ± 0,04	-	-	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,01	-	-	929
α-Tujeno	7,87	0,03 ± 0,02	0,13 ± 0,11	0,15 ± 0,15	0,37 ± 0,08	0,09 ± 0,05	0,05 ± 0,03	-	-	933
α-Pineno	8,18	0,22 ± 0,08	1,00 ± 0,83	0,93 ± 0,68	2,70 ± 0,55	1,55 ± 0,71	0,70 ± 0,36	0,07 ± 0,05	0,05 ± 0,03	941
Canfeno	8,86	0,43 ± 0,14	1,58 ± 1,27	1,40 ± 0,92	4,40 ± 0,80	1,81 ± 0,96	1,14 ± 0,57	0,13 ± 0,09	0,10 ± 0,03	958
Sabineno	9,80	0,11 ± 0,04	0,16 ± 0,12	0,16 ± 0,13	0,34 ± 0,04	0,46 ± 0,14	0,24 ± 0,15	-	-	979
β-Pineno	9,85	0,09 ± 0,03	0,27 ± 0,22	0,27 ± 0,21	0,83 ± 0,10	0,33 ± 0,12	0,21 ± 0,12	-	-	980
Mirceno	10,55	4,36 ± 1,45	4,85 ± 2,60	7,76 ± 3,55	15,44 ± 1,41	8,38 ± 2,74	5,48 ± 2,61	0,89 ± 0,58	1,67 ± 0,69	995
α-Terpineno	11,74	0,06 ± 0,02	0,11 ± 0,07	0,13 ± 0,09	0,25 ± 0,03	0,21 ± 0,09	0,15 ± 0,06	0,07 ± 0,04	-	1024
p-Cimeno	12,20	0,14 ± 0,04	0,20 ± 0,13	0,51 ± 0,23	1,09 ± 0,11	0,40 ± 0,04	0,61 ± 0,19	1,02 ± 0,84	0,33 ± 0,11	1035
Limoneno	12,39	0,53 ± 0,18	1,00 ± 0,60	1,32 ± 0,57	3,02 ± 0,56	4,46 ± 1,61	3,79 ± 2,23	0,60 ± 0,51	0,78 ± 0,37	1039
cis-Ocimeno	12,65	0,66 ± 0,27	0,61 ± 0,46	0,77 ± 0,32	1,15 ± 0,19	1,49 ± 0,66	0,56 ± 0,30	0,35 ± 0,21	0,35 ± 0,07	1044
trans-Ocimeno	13,12	0,46 ± 0,21	0,42 ± 0,32	0,51 ± 0,20	0,65 ± 0,11	1,10 ± 0,47	0,36 ± 0,21	0,25 ± 0,15	0,24 ± 0,05	1054
γ-Terpineno	13,74	0,35 ± 0,07	0,42 ± 0,19	0,57 ± 0,27	0,77 ± 0,07	0,67 ± 0,23	0,45 ± 0,17	0,55 ± 0,33	0,21 ± 0,09	1068
Terpinoleno	14,93	0,07 ± 0,04	-	-	-	-	0,10 ± 0,07	0,08 ± 0,05	-	1091
Total		7,48 ± 2,31	10,79 ± 6,84	14,48 ± 7,17	31,01 ± 2,14	20,96 ± 7,48	13,85 ± 6,84	4,01 ± 2,31	3,73 ± 0,67	
Monoterpenos oxigenados										
1,8-Cineol	12,51	0,32 ± 0,09	0,43 ± 0,19	0,83 ± 0,45	1,78 ± 0,32	0,19 ± 0,07	-	-	0,03 ± 0,03	1041
Hidrato de cis-Sabineno	14,37	0,59 ± 0,10	0,87 ± 0,07	0,8 ± 0,29	1,21 ± 0,15	0,93 ± 0,22	1,03 ± 0,57	0,22 ± 0,17	0,15 ± 0,15	1080
Óxido de trans-Linalol	14,63	0,06 ± 0,02	0,08 ± 0,05	0,11 ± 0,07	0,12 ± 0,04	0,10 ± 0,06	-	-	-	1090
Linalol	16,05	42,60 ± 5,82	17,49 ± 9,13	7,57 ± 4,65	7,23 ± 4,67	5,28 ± 1,47	4,67 ± 2,32	7,88 ± 4,66	2,32 ± 1,07	1114
cis-p-Ment-2-en-1-ol	16,58	0,04 ± 0,02	-	-	-	-	-	-	-	1133
Alcanfor	18,16	5,93 ± 1,38	10,04 ± 2,16	11,84 ± 4,01	18,22 ± 1,37	7,98 ± 2,30	6,49 ± 3,21	4,81 ± 2,64	1,93 ± 1,07	1161
Borneol	19,33	0,20 ± 0,07	0,19 ± 0,04	0,19 ± 0,08	0,36 ± 0,14	0,71 ± 0,24	1,50 ± 0,45	1,31 ± 0,75	1,95 ± 0,55	1185

Tabla 10: Continuación monoterpenos oxigenados

Compuesto	Tr	INNO 1				INNO 2				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Monoterpenos oxigenados										
Terpinen-4-ol	19,61	1,12 ± 0,32	2,58 ± 0,38	2,94 ± 1,00	3,52 ± 0,38	1,70 ± 0,28	2,26 ± 0,63	2,96 ± 1,67	1,14 ± 0,40	1190
α-Terpineol	20,31	1,57 ± 0,42	3,70 ± 1,04	3,76 ± 1,28	3,73 ± 0,67	1,96 ± 0,39	2,14 ± 0,61	2,32 ± 0,73	0,77 ± 0,26	1204
Nerol	21,34	0,11 ± 0,06	0,72 ± 0,62	0,10 ± 0,10	-	1,64 ± 0,54	1,75 ± 0,59	1,49 ± 0,39	2,93 ± 1,25	1235
Neral	21,89	0,08 ± 0,05	0,37 ± 0,36	0,05 ± 0,05	-	0,60 ± 0,25	0,89 ± 0,32	0,66 ± 0,25	1,86 ± 0,52	1249
Geraniol	22,83	1,23 ± 0,88	7,07 ± 6,42	0,42 ± 0,42	0,11 ± 0,11	16,02 ± 4,26	18,87 ± 4,48	19,51 ± 4,87	13,54 ± 6,21	1261
Geranial	23,31	0,10 ± 0,07	0,40 ± 0,37	0,07 ± 0,07	-	0,66 ± 0,26	1,04 ± 0,33	0,76 ± 0,19	1,98 ± 0,54	1278
Acetato de Bornilo	24,16	-	-	-	-	0,08 ± 0,05	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,03	0,06 ± 0,06	1291
Timol	24,16	0,02 ± 0,02	-	-	-	-	-	0,07 ± 0,07	-	1291
Carvacrol	24,77	1,44 ± 0,69	0,25 ± 0,12	-	-	-	-	0,16 ± 0,06	0,10 ± 0,07	1304
Acetato de Carvacrilo	27,49	-	-	-	-	-	-	0,30 ± 0,30	-	1375
Acetato de Nerilo	27,12	0,23 ± 0,09	0,15 ± 0,13	-	-	-	-	-	0,68 ± 0,47	1366
Acetato de Geranilo	27,99	4,15 ± 2,52	4,29 ± 3,53	1,27 ± 0,32	0,92 ± 0,16	-	-	-	-	1386
Total		59,77 ± 4,64	48,63 ± 7,46	29,95 ± 10,29	37,20 ± 3,72	37,83 ± 1,42	40,66 ± 5,01	42,48 ± 10,87	29,44 ± 5,19	
Sesquiterpenos hidrocarbonados										
α-Copaeno	27,94	0,15 ± 0,02	0,25 ± 0,04	0,39 ± 0,04	0,32 ± 0,05	0,19 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,03 ± 0,03	0,12 ± 0,07	1379
β-Bourboneno	28,29	-	-	-	-	0,85 ± 0,23	13,60 ± 7,08	3,97 ± 2,80	14,71 ± 7,86	1387
β-Elemeno	28,57	-	-	-	-	0,27 ± 0,08	0,09 ± 0,06	2,76 ± 2,54	0,27 ± 0,17	1393
α-Gurjuneno	29,30	0,26 ± 0,10	0,47 ± 0,12	0,39 ± 0,13	0,30 ± 0,11	0,10 ± 0,04	-	-	0,08 ± 0,08	1411
β-Cariofileno	29,93	6,34 ± 0,28	8,91 ± 1,94	13,04 ± 1,22	8,50 ± 1,57	10,80 ± 1,71	9,48 ± 1,34	5,42 ± 0,97	11,53 ± 1,73	1427
β-Copaeno	29,95	0,08 ± 0,01	0,20 ± 0,04	0,33 ± 0,03	0,26 ± 0,05	0,02 ± 0,02	-	-	-	1433
Aromandreno	30,26	0,09 ± 0,02	0,22 ± 0,06	0,26 ± 0,04	-	0,02 ± 0,02	-	-	0,41 ± 0,06	1442
α-Humuleno	31,25	0,32 ± 0,08	0,24 ± 0,09	0,75 ± 0,22	0,29 ± 0,07	0,62 ± 0,13	0,44 ± 0,02	0,28 ± 0,08	0,42 ± 0,07	1460
allo-Aromadendreno	31,45	0,27 ± 0,08	0,28 ± 0,13	0,39 ± 0,23	0,32 ± 0,12	0,21 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,17 ± 0,11	0,60 ± 0,22	1465
Germacreno D	32,33	4,00 ± 0,47	4,90 ± 1,26	6,03 ± 1,40	2,26 ± 0,32	7,10 ± 1,63	4,38 ± 0,92	3,79 ± 1,48	1,87 ± 0,26	1486
β-Selineno	32,71	0,12 ± 0,03	0,29 ± 0,07	0,33 ± 0,10	0,20 ± 0,07	0,03 ± 0,03	-	-	0,15 ± 0,09	1489

4. RESULTADOS

Tabla 10: Continuación sesquiterpenos hidrocarbonados

Compuesto	Tr	INNO 1				INNO 2				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Sesquiterpenos hidrocarbonados										
Biclogermacreno	32,99	6,97 ± 0,71	5,66 ± 1,89	8,37 ± 3,43	2,71 ± 1,00	8,88 ± 2,63	3,36 ± 0,96	3,39 ± 1,55	7,21 ± 2,39	1502
Germacreno A	33,08	0,38 ± 0,14	0,42 ± 0,18	0,20 ± 0,08	1,09 ± 0,76	0,15 ± 0,03	0,08 ± 0,05	-	0,09 ± 0,05	1508
γ-Cadineno	33,35	0,18 ± 0,04	0,57 ± 0,16	0,72 ± 0,18	0,50 ± 0,10	0,29 ± 0,03	0,70 ± 0,08	0,92 ± 0,57	0,49 ± 0,12	1512
δ-Cadineno	33,79	0,65 ± 0,19	1,07 ± 0,33	1,38 ± 0,37	0,73 ± 0,17	1,34 ± 0,16	1,50 ± 0,11	1,69 ± 0,92	0,88 ± 0,25	1524
Total		19,79 ± 1,61	23,48 ± 5,99	32,58 ± 5,38	17,48 ± 2,82	30,85 ± 5,81	34,11 ± 9,50	22,42 ± 5,77	38,83 ± 5,70	
Sesquiterpenos oxigenados										
Palustrol	35,52	0,39 ± 0,15	0,58 ± 0,14	0,60 ± 0,26	-	-	-	-	-	1567
Espatuleno	36,33	2,69 ± 0,48	3,80 ± 1,10	5,49 ± 2,61	3,80 ± 0,65	4,13 ± 0,59	2,58 ± 0,59	8,42 ± 2,49	14,97 ± 1,11	1590
Óxido de Cariofileno	36,42	1,67 ± 0,28	1,82 ± 0,39	2,31 ± 1,24	2,54 ± 0,62	1,03 ± 0,28	1,52 ± 0,59	5,50 ± 1,69	2,32 ± 0,51	1592
Viridiflorol	36,53	0,71 ± 0,13	0,58 ± 0,17	1,76 ± 0,70	0,52 ± 0,18	0,33 ± 0,14	0,32 ± 0,13	1,28 ± 0,37	0,54 ± 0,40	1595
Cariofila-4(14), 8(15)-dien-5-ol	38,27	0,27 ± 0,03	0,56 ± 0,16	0,94 ± 0,30	0,46 ± 0,07	0,15 ± 0,07	0,33 ± 0,08	0,85 ± 0,24	0,93 ± 0,22	1643
epi-α-Muurolol	38,66	0,28 ± 0,09	0,58 ± 0,21	0,77 ± 0,23	0,28 ± 0,11	0,48 ± 0,05	0,61 ± 0,08	1,37 ± 0,70	0,73 ± 0,18	1654
α-Muurolol	38,75	0,32 ± 0,11	0,39 ± 0,12	0,42 ± 0,15	0,30 ± 0,16	0,62 ± 0,08	0,36 ± 0,04	0,95 ± 0,54	0,44 ± 0,20	1657
α-Cadinol	39,10	1,09 ± 0,27	1,10 ± 0,39	1,38 ± 0,44	0,92 ± 0,19	1,85 ± 0,22	1,12 ± 0,07	3,42 ± 1,35	1,60 ± 0,72	1666
Germacra-4(15), 10(14)-trien-1-α-ol	39,84	0,21 ± 0,04	0,56 ± 0,16	1,14 ± 0,31	0,63 ± 0,10	0,09 ± 0,07	0,45 ± 0,05	1,04 ± 0,30	0,39 ± 0,11	1685
Shiobunol	40,16	2,57 ± 1,13	3,73 ± 1,36	2,56 ± 1,13	1,07 ± 0,38	0,34 ± 0,11	0,64 ± 0,40	1,17 ± 0,75	0,60 ± 0,33	1688
Total		10,19 ± 2,20	13,7 ± 3,80	17,37 ± 7,23	10,52 ± 0,87	9,00 ± 1,41	7,93 ± 1,06	24,00 ± 7,4	22,52 ± 1,96	
Otros										
Octen-3-ol	10,27	0,03 ± 0,02	0,01 ± 0,01	-	0,02 ± 0,02	0,19 ± 0,07	0,09 ± 0,05	0,09 ± 0,05	-	989
TOTAL		97,26	96,61	94,38	96,23	98,83	96,64	93,00	94,52	

Promedio ± error estándar de 4 muestras para cada población y época de muestreo. Tr: tiempo de retención CG; IK: índice de Kovats

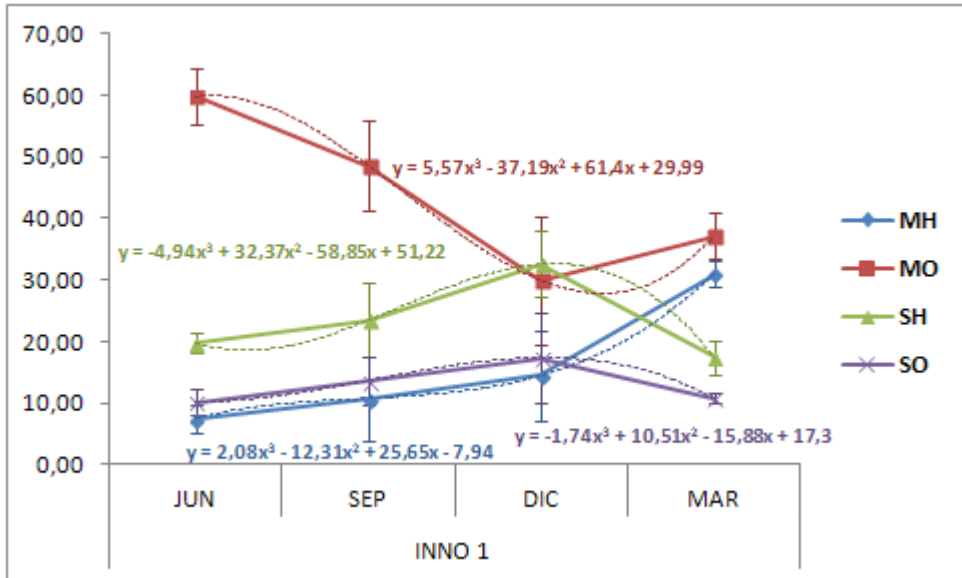


Figura 32: Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial en la localidad INNO 1. (MH: monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados)

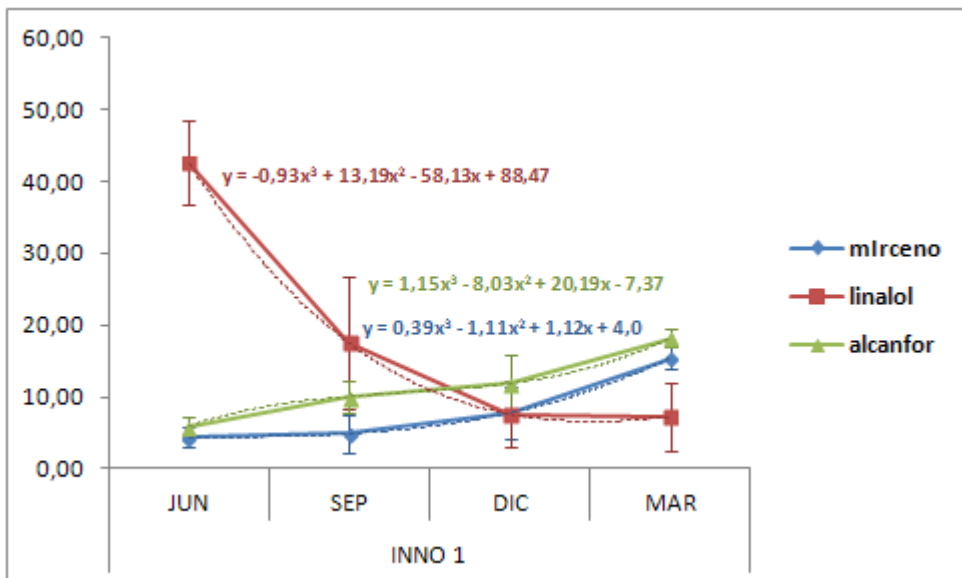


Figura 33: Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *S. innota* en la localidad INNO 1

La segunda localidad de *S. innota*, INNO 2, mostró una composición del aceite esencial bastante diferente a la primera (Tabla 10). Nuevamente, la fracción monoterpénica oxigenada fue la principal en tres de los cuatro muestreos (junio, septiembre y diciembre) pasando a ser la segunda en importancia en marzo, por detrás de los compuestos sesquiterpenos hidrocarbonados (Figura 34). Esta fracción no mostró una variabilidad temporal significativa ($P \leq 0,05$), debido a la uniformidad en la proporción de los componentes de la misma a lo largo del año, en la que destacó el compuesto geraniol como mayoritario en todo el periodo de estudio a excepción del mes de marzo (Figura 35).

El grupo de los sesquiterpenos hidrocarbonados, mayoritario en el mes de marzo, tampoco varió significativamente a lo largo del periodo de estudio ($P \leq 0,05$) siendo la fracción mayoritaria en el mes de marzo (Figura 34). El principal compuesto responsable de esta variación fue el β -bourboneno, representando una gran proporción en los meses de septiembre y marzo (Figura 35). El compuesto β -cariofileno (Figura 35) varió significativamente llegando a alcanzar un máximo en marzo y un mínimo en diciembre. Otros compuestos importantes en este grupo fueron el germacreno D y biciclogermacreno. A nivel cualitativo, se produjo un máximo de estas sustancias en junio y un mínimo en diciembre.

Aunque la fracción monoterpénica hidrocarbonada tuvo una variación importante, constituyendo un 20,96% en junio, disminuyendo hasta llegar a 3,73% en marzo (Figura 34), no fue significativa estadísticamente ($P \leq 0,05$). Destacó el descenso en la proporción de los compuestos mirceno y limoneno. Los compuestos sesquiterpenos oxigenados tuvieron mayor proporción en el total del aceite en los meses de diciembre y marzo en comparación con los meses de junio y septiembre (Figura 34). El compuesto principal causante fue la significativa variación del espatulenol (Figura 35). Cualitativamente se mantuvo uniforme a lo largo de todo el periodo.

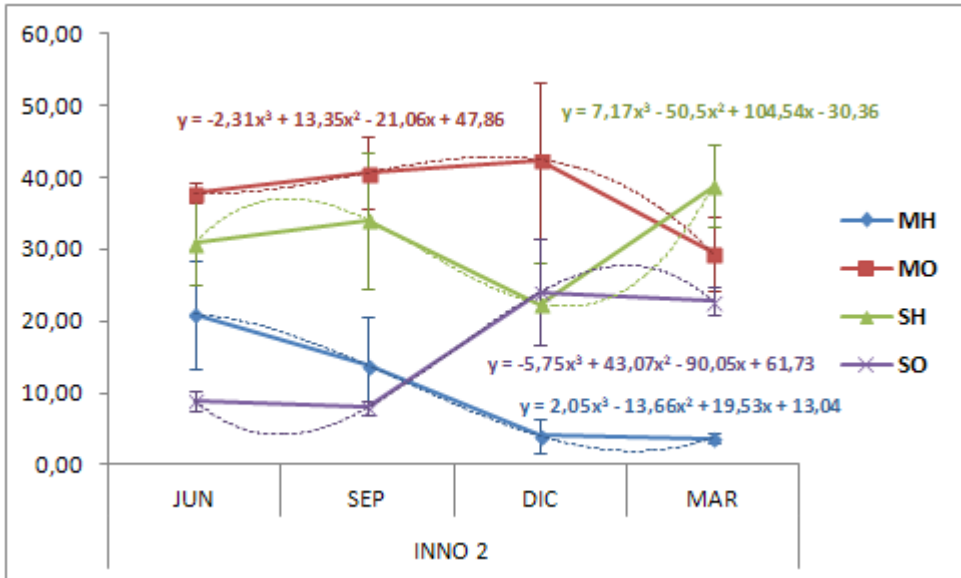


Figura 34: Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de *S. innota* en la localidad INNO 2. (MH: monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados)

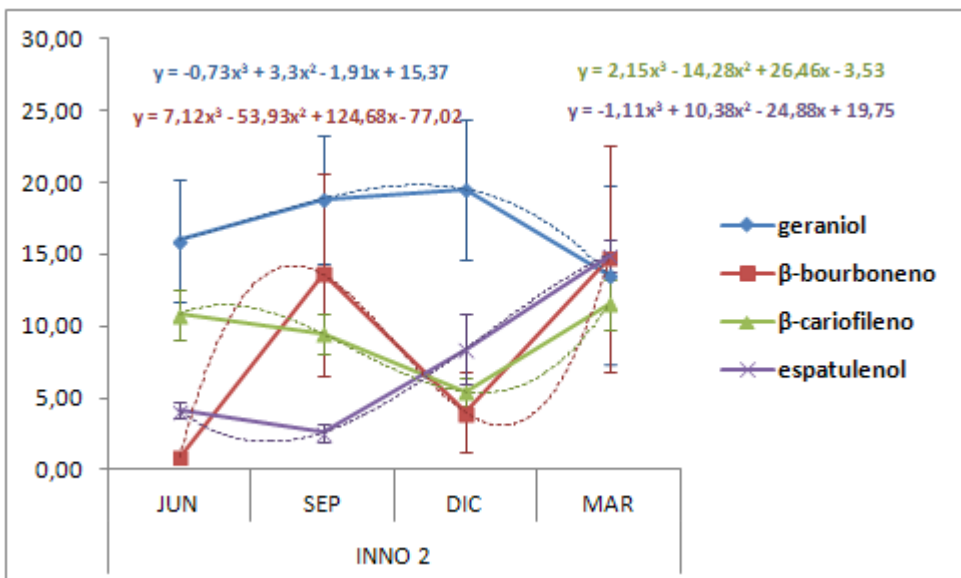


Figura 35: Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *S. innota* en la localidad INNO 2

4.3.2.4. Aceite esencial de *S. intricata* Lange

La especie *S. intricata* constó de cuatro localidades distintas: dos en Chiva (INTR 1 y 2), situadas a diferentes altitudes, y otras dos en Navalón (INTR 3 y 4), también a diferente altura. En todas las localidades y muestreos se superó la identificación del 96% del total del aceite esencial (Tablas 11 y 12). Todas las localidades presentaron un máximo de compuestos identificados en las muestras recogidas en junio, descendiendo en el resto de muestreos.

La localidad INTR 1 (Chiva, 327 m) (Tabla 11), mostró uniformidad en cuanto a su proporción relativa en el aceite esencial en la fracción monoterpénica hidrocarbonada en los meses de junio, diciembre y marzo, descendiendo significativamente ($P \leq 0,05$) en septiembre (Figura 36). Cabe destacar la cantidad importante de *p*-cimeno en los meses de diciembre y marzo, constituyéndose el compuesto mayoritario del aceite esencial en estas épocas, mientras que en junio y septiembre tuvo mucha menor importancia (Figura 37).

La segunda fracción, formada los compuestos monoterpenos oxigenados, fue la mayoritaria en los meses de junio, septiembre y diciembre, siendo la segunda en importancia en el mes de marzo, por detrás de los monoterpenos hidrocarbonados (Figura 36). A pesar de ello, esta fracción no mostró variabilidad temporal significativa ($P \leq 0,05$). Tres son los compuestos a tener en cuenta en esta fracción: linalol, con una variación significativa teniendo su máximo en junio y su mínimo en diciembre; alcanfor, uniforme en su proporción a lo largo del año con un máximo en septiembre y un mínimo en marzo aunque sin diferencias estadísticas; y carvacrol, también homogéneo en el transcurso del estudio (Figura 37). El compuesto alcanfor fue el mayoritario en el aceite esencial en junio, septiembre y diciembre.

Los sesquiterpenos hidrocarbonados no mostraron una variabilidad temporal significativa ($P \leq 0,05$) (Figura 36). El máximo de estas sustancias se obtuvo en junio y septiembre, disminuyendo en los meses de diciembre y marzo. El principal compuesto de esta fracción fue el β -cariofileno, con un máximo en el mes de septiembre y un mínimo en marzo. El número de compuestos identificados descendió gradualmente desde el mes de junio hasta el mes de marzo.

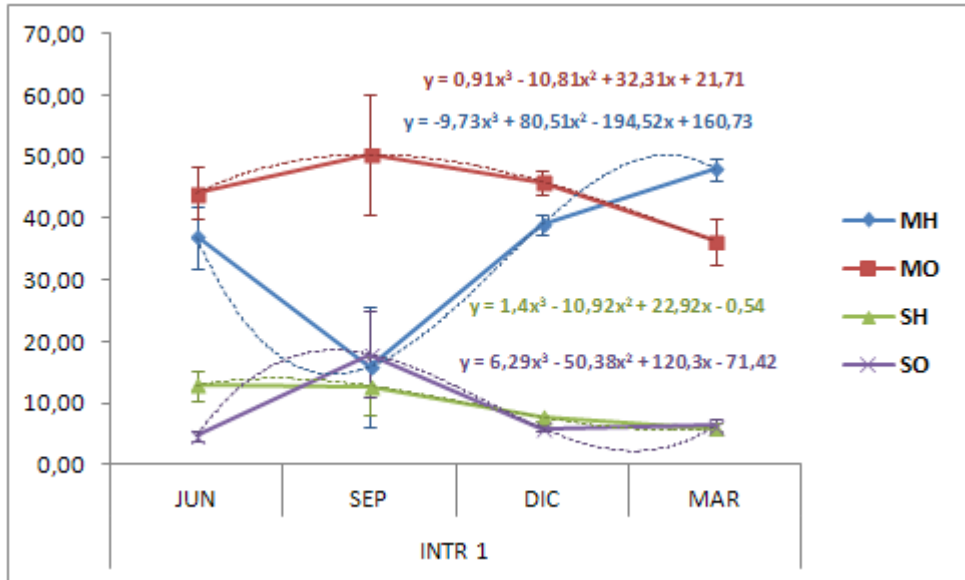


Figura 36: Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de *S. intricata* en la localidad INTR 1.

MH: monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados

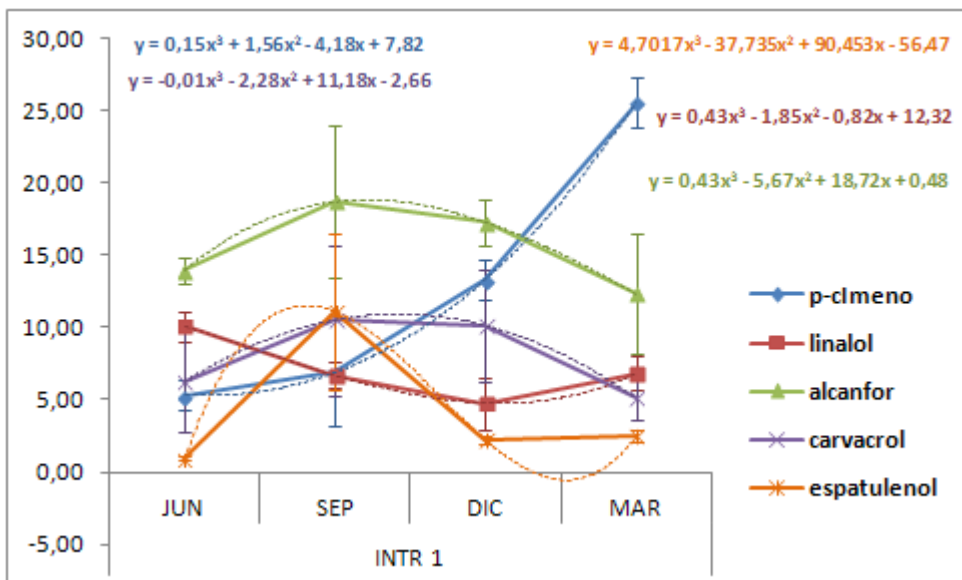


Figura 37: Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *S. intricata* en la localidad INTR 1

La última fracción, los sesquiterpenos oxigenados, sí mostró variación temporal significativa ($P \leq 0,05$) a lo largo del año, manteniéndose uniforme en los meses de junio, diciembre y marzo, e incrementándose considerablemente en septiembre (Figura 36). Esto fue debido al aumento significativo en este muestreo del compuesto espatulenol (Figura 37), que llegó a suponer un 11,11% del total del aceite esencial en esta fecha mientras que en el resto del año osciló entre 0,95 y 2,49%.

La segunda localidad de *S. intricata*, INTR 2 (Tabla 11), no presentó una variación significativa ($P \leq 0,05$) en la proporción de la serie monoterpénica hidrocarbonada a lo largo del año. Presentó un máximo de estas sustancias en el mes de diciembre y un mínimo en septiembre (Figura 38). Los compuestos de mayor relevancia en esta fracción fueron el *p*-cimeno, que varió significativamente su proporción entre los meses de septiembre y diciembre, y γ -terpineno, que también tuvo un aumento significativo en el mes de junio, manteniendo su proporción en el resto del año con menor incidencia (Figura 39).

La fracción monoterpénica oxigenada (Figura 38) fue la de mayor relevancia dentro del aceite en todos los muestreos, sin presentar una variación significativa ($P \leq 0,05$). En este grupo encontramos el compuesto mayoritario en todo el periodo de estudio, alcanfor, que varió significativamente a lo largo del año (junio 13,86%; septiembre 27,73%; diciembre 20,62% y marzo 17,01%) (Figura 39). También cabe destacar el compuesto α -terpineol (Figura 39), que también varió su proporción significativamente teniendo un máximo en marzo y un mínimo en diciembre.

Las fracciones sesquiterpénicas, aunque de menor importancia cualitativa y cuantitativa, si presentaron un variación temporal significativa ($P \leq 0,05$) (Figura 38). La primera fracción, los compuestos sesquiterpénicos hidrocarbonados, presentó un máximo en el mes de junio y un mínimo en marzo. El compuesto β -cariofileno fue nuevamente el de mayor importancia de este grupo, sin llegar a tener un peso importante en el total del aceite esencial. El grupo de los sesquiterpenos oxigenados tuvo un mínimo en el mes de junio, incrementándose progresivamente hasta llegar a su máximo en marzo.

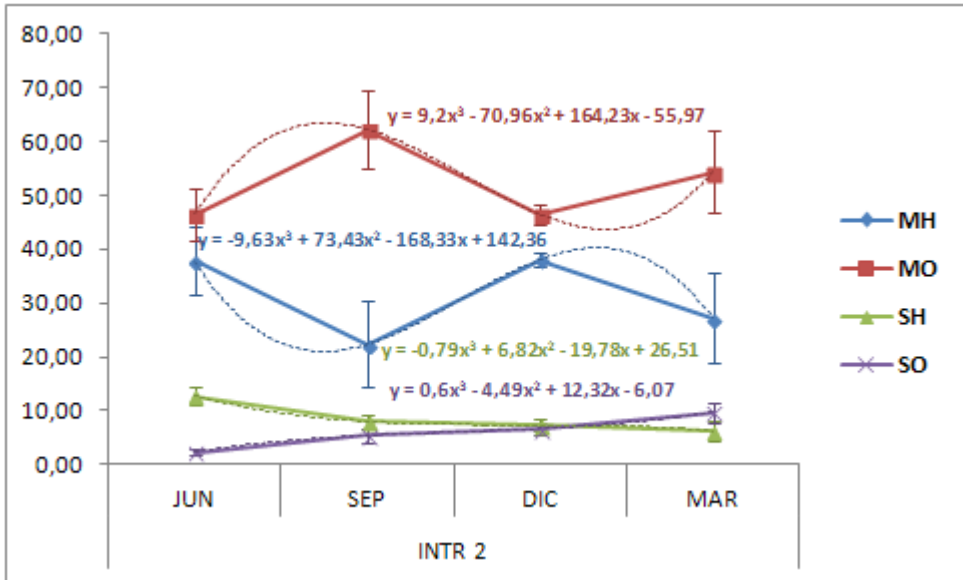


Figura 38: Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de *S. intricata* en la localidad INTR 2.

MH: monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados

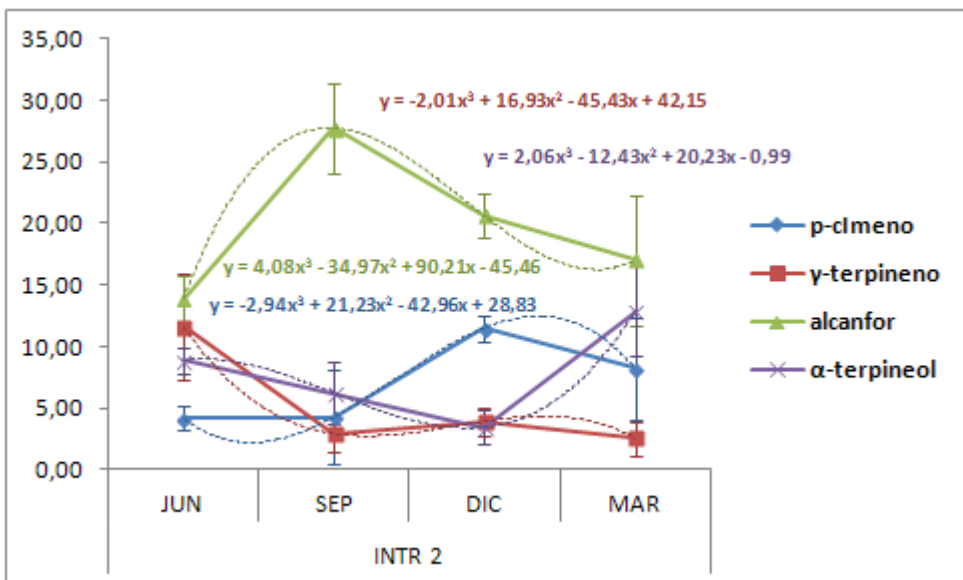


Figura 39: Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *S. intricata* en la localidad INTR 2

Tabla 11: Variación en la composición del aceite esencial de *S. intricata* en en la localidad de Chiva

Compuesto	Tr	INTR 1				INTR 2				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Monoterpenos hidrocarbonados										
Tricliceno	7,73	0,10 ± 0,04	0,07 ± 0,07	0,12 ± 0,05	0,14 ± 0,05	0,09 ± 0,03	0,11 ± 0,04	0,18 ± 0,01	0,12 ± 0,07	929
α-Tujeno	7,87	0,42 ± 0,11	0,15 ± 0,15	0,43 ± 0,05	0,46 ± 0,02	0,43 ± 0,11	0,25 ± 0,10	0,35 ± 0,05	0,19 ± 0,15	933
α-Pineno	8,18	2,48 ± 0,76	1,14 ± 1,14	2,87 ± 0,70	3,08 ± 0,42	2,17 ± 0,42	2,38 ± 0,80	3,52 ± 0,26	2,53 ± 0,96	941
Canfeno	8,86	4,20 ± 1,04	1,96 ± 1,78	5,60 ± 1,02	6,90 ± 0,89	3,91 ± 0,67	4,64 ± 1,43	6,55 ± 0,17	5,54 ± 1,89	958
Sabineno	9,80	0,35 ± 0,05	0,08 ± 0,08	0,20 ± 0,05	0,28 ± 0,16	0,43 ± 0,08	0,28 ± 0,10	0,32 ± 0,07	0,19 ± 0,09	979
β-Pineno	9,85	0,64 ± 0,13	0,34 ± 0,34	0,84 ± 0,13	0,78 ± 0,08	0,57 ± 0,07	0,71 ± 0,24	0,97 ± 0,08	0,65 ± 0,24	980
Mirceno	10,55	5,02 ± 2,11	0,91 ± 0,86	2,49 ± 0,66	2,75 ± 0,70	5,31 ± 1,36	4,17 ± 1,61	5,57 ± 1,60	3,22 ± 1,09	995
α-Felandreno	10,94	0,05 ± 0,02	-	-	-	0,05 ± 0,03	-	-	-	1010
α-Terpineno	11,74	0,71 ± 0,15	0,19 ± 0,14	0,47 ± 0,14	0,34 ± 0,08	0,97 ± 0,27	0,46 ± 0,18	0,59 ± 0,07	0,35 ± 0,12	1024
p-Cimeno	12,20	5,34 ± 1,01	6,88 ± 3,62	13,34 ± 1,36	25,60 ± 1,68	4,16 ± 0,98	4,27 ± 3,79	11,51 ± 1,04	8,21 ± 4,21	1035
Limoneno	12,39	5,34 ± 1,89	0,33 ± 0,15	3,14 ± 0,67	2,92 ± 0,46	4,11 ± 0,64	0,68 ± 0,61	3,22 ± 1,06	2,90 ± 0,87	1039
cis-Ocimeno	12,65	1,86 ± 0,56	0,96 ± 0,87	1,77 ± 0,34	0,44 ± 0,18	2,13 ± 0,73	0,88 ± 0,47	0,71 ± 0,21	0,40 ± 0,09	1044
trans-Ocimeno	13,12	1,40 ± 0,41	0,02 ± 0,02	0,71 ± 0,21	0,33 ± 0,21	1,59 ± 0,54	0,45 ± 0,32	0,45 ± 0,13	0,26 ± 0,05	1054
γ-Terpineno	13,74	8,81 ± 1,91	2,81 ± 1,01	6,94 ± 0,91	3,98 ± 0,43	11,64 ± 4,26	2,92 ± 1,40	3,92 ± 1,12	2,57 ± 1,38	1068
Terpinoleno	14,93	0,28 ± 0,05	0,06 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,40 ± 0,04	0,27 ± 0,04	0,12 ± 0,08	0,21 ± 0,04	0,09 ± 0,03	1091
Total		36,99 ± 4,98	15,90 ± 9,68	39,05 ± 1,49	48,40 ± 1,74	37,82 ± 6,33	22,32 ± 7,99	38,07 ± 1,40	27,22 ± 8,46	
Monoterpenos oxigenados										
1,8-Cineol	12,51	-	-	-	-	0,19 ± 0,19	3,20 ± 1,64	0,45 ± 0,18	0,11 ± 0,07	1041
Hidrato de cis-Sabineno	14,37	1,27 ± 0,20	1,40 ± 0,36	1,73 ± 0,34	1,61 ± 0,18	0,63 ± 0,16	1,24 ± 0,43	0,90 ± 0,15	0,70 ± 0,19	1080
Hidrato de trans-Sabineno	15,83	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02	-	0,01 ± 0,01	0,06 ± 0,05	-	-	1109
Linalol	16,05	10,08 ± 1,01	6,71 ± 0,94	4,77 ± 1,80	6,82 ± 1,17	8,19 ± 1,85	7,93 ± 0,37	4,73 ± 0,85	3,38 ± 0,88	1114
cis-p-Ment-2-en-1-ol	16,58	0,10 ± 0,01	-	-	-	0,07 ± 0,04	-	-	-	1133

Tabla 11: Continuación monoterpenos oxigenados

Compuesto	Tr	INTR 1				INTR 2				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Monoterpenos oxigenados										
Alcanfor	18,16	13,97 ± 0,93	18,71 ± 5,24	17,31 ± 1,60	12,35 ± 4,11	13,86 ± 1,85	27,73 ± 3,68	20,62 ± 1,82	17,01 ± 5,30	1161
Borneol	19,33	4,99 ± 1,40	6,01 ± 1,27	4,29 ± 1,17	5,03 ± 1,44	4,84 ± 0,31	2,09 ± 0,98	6,96 ± 2,59	8,34 ± 1,73	1185
Terpinen-4-ol	19,61	2,30 ± 0,55	2,33 ± 0,80	4,35 ± 2,22	2,12 ± 0,13	2,44 ± 0,50	7,23 ± 2,19	5,47 ± 1,98	10,89 ± 7,80	1190
<i>p</i> -Metil-Acetofenona	20,10	-	-	-	-	0,03 ± 0,03	0,37 ± 0,23	-	-	1200
α -Terpineol	20,31	4,70 ± 1,76	2,90 ± 0,58	2,64 ± 0,87	2,42 ± 0,41	8,87 ± 1,04	6,23 ± 2,52	3,45 ± 1,42	12,89 ± 3,64	1204
<i>trans</i> -Dihidro-Carvona	21,08	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,04	-	0,03 ± 0,03	0,09 ± 0,03	0,14 ± 0,08	0,02 ± 0,02	-	1223
Formato de Isobornilo	22,07	0,03 ± 0,03	-	-	-	-	-	-	-	1246
Carvacrol metil éter	22,75	0,04 ± 0,04	0,07 ± 0,07	-	-	0,16 ± 0,16	-	-	-	1266
Acetato de Bornilo	24,16	0,13 ± 0,07	0,20 ± 0,12	0,38 ± 0,18	0,60 ± 0,21	0,20 ± 0,15	1,32 ± 1,18	0,36 ± 0,19	0,12 ± 0,12	1291
Timol	24,16	0,13 ± 0,07	1,33 ± 1,04	0,32 ± 0,26	0,25 ± 0,14	1,40 ± 0,93	0,01 ± 0,01	0,09 ± 0,09	0,06 ± 0,06	1291
Carvacrol	24,77	6,23 ± 3,42	10,51 ± 5,22	10,15 ± 3,83	5,09 ± 1,50	5,51 ± 1,46	4,70 ± 2,73	3,43 ± 1,59	0,90 ± 0,52	1304
Acetato de Carvacrilo	27,49	0,07 ± 0,02	-	-	-	0,04 ± 0,02	-	-	-	1375
Acetato de Geranilo	27,99	-	0,13 ± 0,13	-	-	-	-	-	-	1386
Total		44,13 ± 4,24	50,41 ± 9,69	45,98 ± 1,95	36,32 ± 3,82	46,50 ± 4,71	62,25 ± 7,09	46,48 ± 1,82	54,40 ± 7,64	
Sesquiterpenos hidrocarbonados										
β -Bourboneno	28,29	0,10 ± 0,02	0,26 ± 0,11	0,15 ± 0,05	0,18 ± 0,07	0,08 ± 0,01	0,28 ± 0,02	0,31 ± 0,10	0,43 ± 0,05	1387
β -Elemeno	28,57	0,12 ± 0,05	-	-	-	0,05 ± 0,02	0,03 ± 0,03	-	-	1393
α -Gurjuneno	29,30	0,25 ± 0,09	0,10 ± 0,06	0,10 ± 0,06	-	0,13 ± 0,05	0,11 ± 0,07	0,15 ± 0,10	0,04 ± 0,04	1411
β -Cariofileno	29,93	6,35 ± 1,39	9,45 ± 3,67	5,94 ± 0,51	4,95 ± 0,83	7,43 ± 1,16	4,91 ± 0,65	4,98 ± 0,44	4,38 ± 1,46	1427
α -Humuleno	31,25	0,29 ± 0,05	0,36 ± 0,16	0,14 ± 0,05	0,03 ± 0,03	0,32 ± 0,06	0,10 ± 0,04	0,11 ± 0,04	0,12 ± 0,05	1460
<i>allo</i> -Aromadendreno	31,45	0,15 ± 0,07	0,12 ± 0,09	-	-	0,04 ± 0,02	0,07 ± 0,07	0,10 ± 0,10	0,07 ± 0,04	1465
Germacreno D	32,33	1,51 ± 0,51	1,07 ± 0,46	0,77 ± 0,18	0,26 ± 0,04	1,57 ± 0,25	0,84 ± 0,32	0,80 ± 0,25	0,31 ± 0,13	1486
Biciclogermacreno	32,99	3,71 ± 1,31	0,82 ± 0,39	0,36 ± 0,06	0,45 ± 0,02	2,81 ± 0,93	1,30 ± 0,68	0,71 ± 0,25	0,65 ± 0,16	1502
β -Bisaboleno	33,02	0,14 ± 0,04	0,39 ± 0,03	0,26 ± 0,01	0,07 ± 0,07	0,14 ± 0,02	0,24 ± 0,22	-	0,16 ± 0,16	1505

4. RESULTADOS

Tabla 11: Continuación monoterpenos oxigenados

Compuesto	Tr	INTR 1				INTR 2				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Sesquiterpenos hidrocarbonados										
γ -Cadineno	33,35	-	-	-	-	0,01 \pm 0,01	0,02 \pm 0,02	0,08 \pm 0,05	0,04 \pm 0,04	1512
δ -Cadineno	33,79	0,26 \pm 0,10	0,27 \pm 0,22	-	-	0,20 \pm 0,06	0,07 \pm 0,04	0,13 \pm 0,08	0,09 \pm 0,05	1524
Total		12,86 \pm 2,41	12,84 \pm 4,70	7,72 \pm 0,54	5,94 \pm 0,84	12,77 \pm 1,70	7,97 \pm 1,19	7,37 \pm 0,98	6,29 \pm 1,83	
Sesquiterpenos oxigenados										
Palustrol	35,52	0,07 \pm 0,04	-	-	-	0,03 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02	-	0,05 \pm 0,05	1567
Ledol	35,82	0,16 \pm 0,06	0,33 \pm 0,16	-	-	0,18 \pm 0,14	0,06 \pm 0,05	-	0,24 \pm 0,13	1577
Espatulenol	36,33	0,95 \pm 0,10	11,11 \pm 5,47	2,22 \pm 0,25	2,49 \pm 0,41	0,55 \pm 0,23	3,02 \pm 1,10	3,77 \pm 1,24	2,68 \pm 0,85	1590
Óxido de Cariofileno	36,42	1,18 \pm 0,53	2,74 \pm 1,15	2,53 \pm 0,18	3,67 \pm 0,68	0,62 \pm 0,19	0,70 \pm 0,60	1,69 \pm 0,84	4,62 \pm 1,66	1592
Viridiflorol	36,53	0,23 \pm 0,05	-	-	0,05 \pm 0,05	0,09 \pm 0,06	-	-	0,17 \pm 0,14	1595
Cariofila-4(14), 8(15)-dien-5-ol	38,27	0,19 \pm 0,11	0,59 \pm 0,27	0,18 \pm 0,07	0,16 \pm 0,05	0,10 \pm 0,02	0,32 \pm 0,07	0,14 \pm 0,05	0,43 \pm 0,05	1643
<i>epi</i> - α -Muurolol	38,66	0,14 \pm 0,05	1,77 \pm 0,86	0,41 \pm 0,14	-	0,07 \pm 0,04	0,74 \pm 0,30	0,58 \pm 0,12	0,71 \pm 0,41	1654
α -Muurolol	38,75	-	0,13 \pm 0,13	-	-	-	-	-	-	1657
α -Cadinol	39,10	0,45 \pm 0,17	0,25 \pm 0,05	0,02 \pm 0,02	-	0,32 \pm 0,12	0,14 \pm 0,08	0,10 \pm 0,06	0,53 \pm 0,15	1666
Germacra-4(15), 10(14)-trien-1- α -ol	39,84	-	0,19 \pm 0,19	-	-	-	0,07 \pm 0,05	-	0,08 \pm 0,04	1685
Shiobunol	40,16	1,44 \pm 0,54	0,89 \pm 0,60	0,58 \pm 0,19	-	0,40 \pm 0,12	0,34 \pm 0,22	0,40 \pm 0,21	0,27 \pm 0,17	1688
Total		4,79 \pm 0,79	18,00 \pm 6,90	5,94 \pm 0,39	6,37 \pm 1,02	2,36 \pm 0,63	5,41 \pm 1,27	6,68 \pm 1,25	9,78 \pm 1,83	
Otros										
Octen-3-ol	10,27	0,24 \pm 0,01	0,09 \pm 0,05	0,23 \pm 0,08	0,58 \pm 0,04	0,20 \pm 0,04	0,13 \pm 0,04	0,16 \pm 0,07	0,12 \pm 0,06	989
TOTAL		99,01	97,24	98,92	97,61	99,65	98,08	98,76	97,81	

Promedio \pm error estándar de 4 muestras para cada población y época de muestreo. Tr: tiempo de retención CG; IK: índice de Kovats

La tercera localidad de *S. intricata* estudiada (Tabla 12), INTR 3, situada en Navalón a 641 m, mostró una variación temporal estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$) en su fracción monoterpénica hidrocarbonada. El resto de las fracciones no mostraron variabilidad estacional significativa (Figura 40). Los compuestos monoterpénicos hidrocarbonados llegaron a su mayor valor en el mes de junio, descendiendo considerablemente en los meses de septiembre y diciembre. Estas diferencias fueron debidas fundamentalmente al incremento significativo en la proporción del compuesto mirceeno en el mes de junio con respecto a septiembre y diciembre y de *p*-cimeno en el mes de marzo, mientras que en el resto del año la cantidad de este compuesto fue significativamente menor (Figura 41).

Los monoterpenos oxigenados fueron la fracción mayoritaria a lo largo del año, a excepción del mes de junio, donde lo fue la fracción monoterpénica hidrocarbonada. En esta fracción destacó por encima de todos el compuesto alcanfor, mayoritario en todos los muestreos realizados. Dicho compuesto mostró una variabilidad significativa a lo largo de los diferentes muestreos (Figura 41). Cabe citar también el componente borneol, uniforme a lo largo de todo el año (Tabla 12).

A pesar de las diferencias observadas en las dos fracciones sesquiterpénicas (hidrocarbonada y oxigenada), éstas fueron uniformes cuantitativamente en los muestreos llevados a cabo ($P \leq 0,05$) (Figura 40). Cabe destacar el incremento de los compuestos β -cariofileno (hidrocarbonado) y espatulenol (oxigenado), causantes del aumento no significativo de estas fracciones en el mes de diciembre.

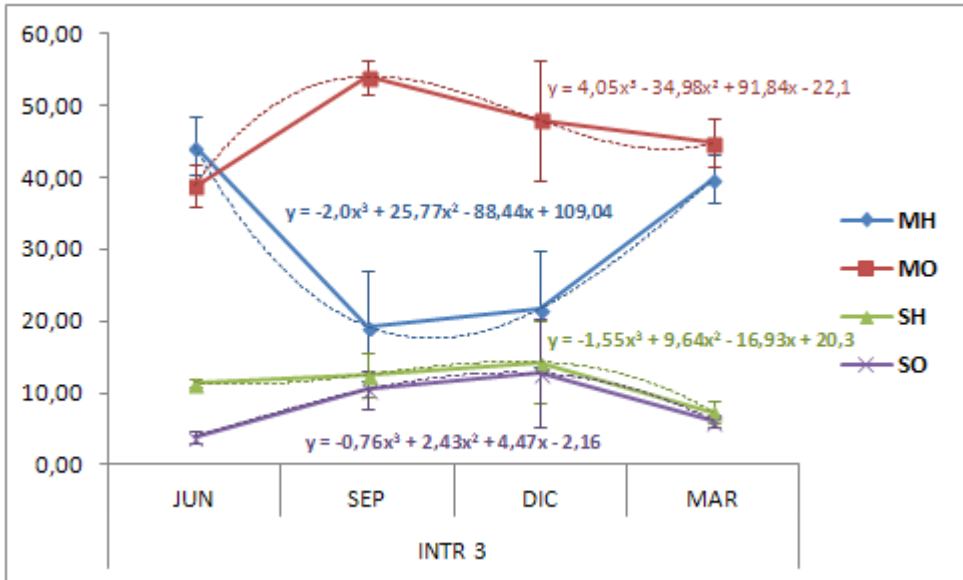


Figura 40: Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de *S. intricata* en la localidad INTR 3.

MH: monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados

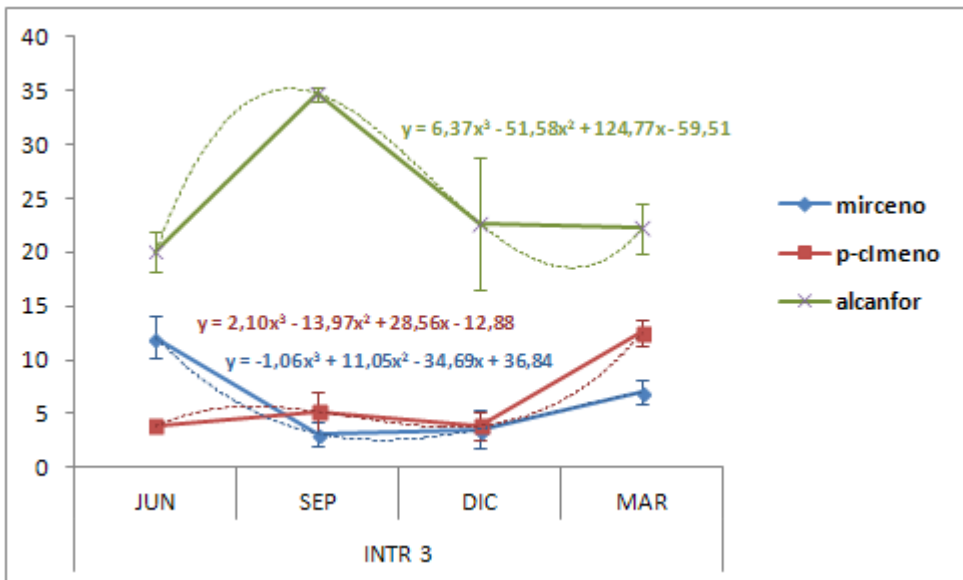


Figura 41: Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *S. intricata* en la localidad INTR 3

La última localidad de esta especie, INTR 4 (Tabla 12), tuvo en la fracción monoterpénica hidrocarbonada la única uniforme en los distintos muestreos llevados a cabo ($P \leq 0,05$) (Figura 42). Tres fueron los compuestos de importancia en esta serie. Por un lado, el mirceno, uniforme estadísticamente a lo largo del año, obtuvo un máximo en junio, bajando su proporción en el resto de muestreos. En segundo lugar, el *p*-cimeno (Figura 43) presentó una variabilidad significativa llegando a alcanzar su mayor valor en marzo mientras que en el resto de muestreos fue notoriamente inferior. Por último, el γ -terpineno, que también varió significativamente, alcanzó en diciembre su máximo, con mucha menor incidencia en el resto de muestreos (Figura 43).

La fracción monoterpénica oxigenada, mayoritaria en todos los muestreos, sí que presentó una variabilidad temporal estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$). Esta fracción se mantuvo uniforme en los meses de septiembre, diciembre y marzo, disminuyendo considerablemente en las muestras recogidas en junio (Figura 42). Las variaciones temporales observadas en la proporción del compuesto alcanfor, mayoritario en todos los muestreos, fueron significativas, suponiendo un 16,20% en junio, 30,38% en septiembre, 19,08% en diciembre y 25,83% en marzo (Figura 43). También es destacable el incremento significativo producido en el compuesto carvacrol en el mes de diciembre (Figura 43).

La fracción sesquiterpénica hidrocarbonada presentó una variabilidad significativa, alcanzando su mayor valor en el mes de junio con respecto a los otros meses, de mucha menor importancia cuantitativa (Figura 42). Este aumento es explicado por el significativo aumento en el aceite esencial del compuesto biclogermacreno (Figura 43) en el mes de junio. Los sesquiterpenos oxigenados aumentaron considerablemente en el mes de septiembre con respecto a las otras épocas de muestreo, que fue de menor trascendencia (Figura 43), siendo el espatulenol el componente más importante (Tabla 12).

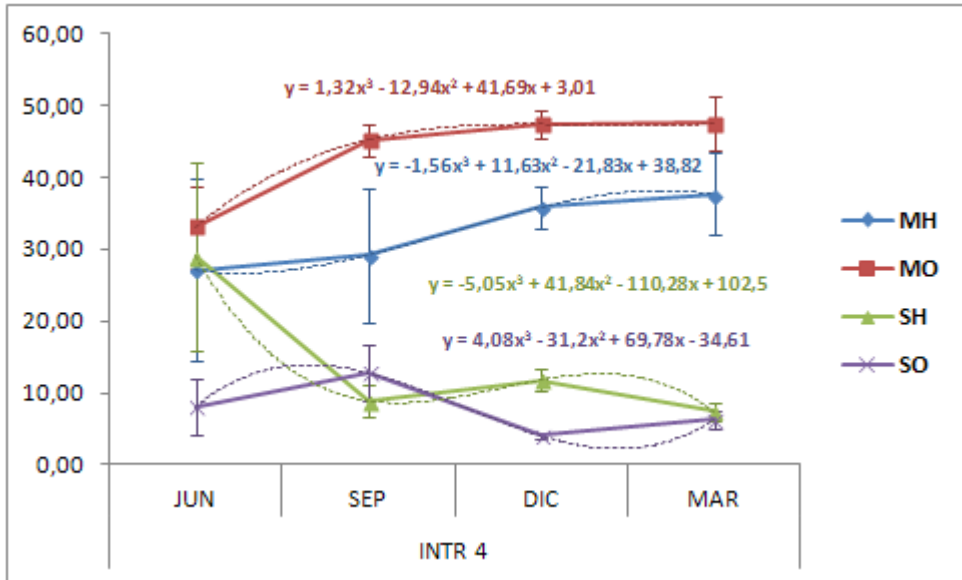


Figura 42: Variación temporal de las distintas fracciones terpénicas del aceite esencial de *S. intricata* en la localidad INTR 4.

MH: monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados

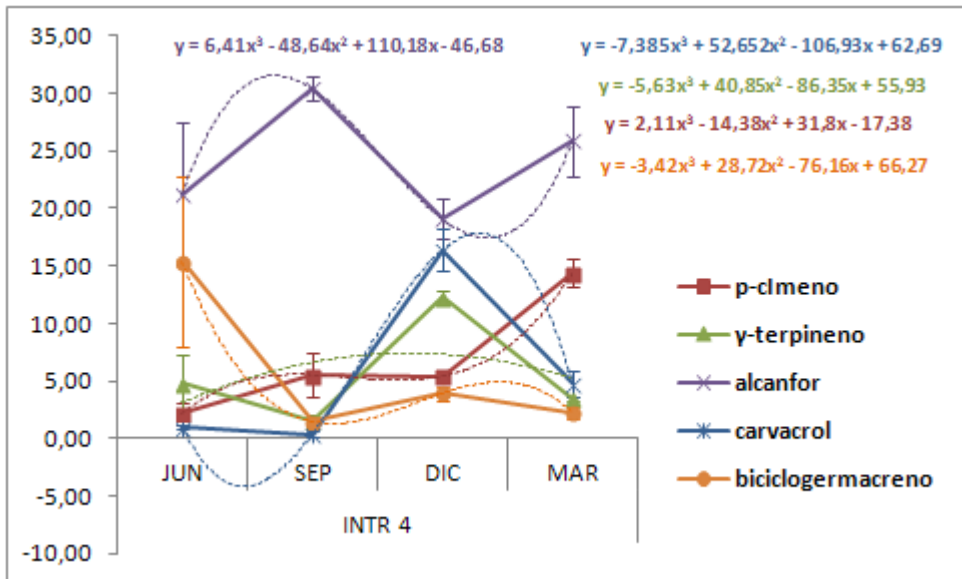


Figura 43: Variación temporal de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *S. intricata* en la localidad INTR 4

Tabla 12: Variación en la composición del aceite esencial de *S. intricata* en la localidad de Navalón

Compuesto	Tr	INTR 3				INTR 4				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Monoterpenos hidrocarbonados										
Triciclono	7,73	0,20 ± 0,04	0,05 ± 0,05	0,09 ± 0,05	0,19 ± 0,06	0,09 ± 0,05	0,16 ± 0,07	0,05 ± 0,03	0,13 ± 0,07	929
α-Tujeno	7,87	0,46 ± 0,07	0,12 ± 0,09	0,18 ± 0,10	0,38 ± 0,09	0,21 ± 0,13	0,24 ± 0,09	0,32 ± 0,07	0,26 ± 0,15	933
α-Pineno	8,18	4,31 ± 0,79	1,72 ± 1,14	2,07 ± 1,13	3,69 ± 0,90	2,16 ± 1,15	3,65 ± 1,35	2,09 ± 0,43	2,77 ± 1,15	941
Canfeno	8,86	7,37 ± 1,09	3,13 ± 1,87	4,02 ± 2,02	6,26 ± 1,03	3,82 ± 1,85	5,72 ± 1,91	4,16 ± 0,69	5,51 ± 1,97	958
Sabineno	9,80	0,59 ± 0,09	0,11 ± 0,07	0,12 ± 0,07	0,27 ± 0,04	0,32 ± 0,17	0,24 ± 0,09	0,24 ± 0,04	0,24 ± 0,10	979
β-Pineno	9,85	1,07 ± 0,15	0,60 ± 0,37	0,68 ± 0,36	0,97 ± 0,17	0,58 ± 0,28	1,01 ± 0,35	0,65 ± 0,09	0,70 ± 0,16	980
Mirceno	10,55	12,14 ± 1,95	3,17 ± 1,13	3,57 ± 1,71	6,98 ± 1,11	8,04 ± 3,61	5,86 ± 1,96	5,73 ± 1,12	6,67 ± 1,53	995
α-Felandreno	10,94	0,05 ± 0,00	-	-	-	0,03 ± 0,01	-	-	-	1010
α-Terpineno	11,74	0,57 ± 0,04	0,16 ± 0,10	0,36 ± 0,14	0,36 ± 0,04	0,29 ± 0,15	0,26 ± 0,09	0,78 ± 0,04	0,18 ± 0,02	1024
p-Cimeno	12,20	3,82 ± 0,20	5,20 ± 1,85	3,90 ± 1,27	12,54 ± 1,15	2,14 ± 0,99	5,52 ± 1,84	5,40 ± 0,54	14,41 ± 1,25	1035
Limoneno	12,39	3,94 ± 0,40	2,11 ± 0,76	1,31 ± 0,44	2,78 ± 0,29	3,29 ± 1,50	4,66 ± 1,49	3,13 ± 0,33	2,95 ± 0,18	1039
cis-Ocimeno	12,65	0,80 ± 0,16	0,22 ± 0,05	0,22 ± 0,11	0,37 ± 0,05	0,64 ± 0,29	0,14 ± 0,06	0,47 ± 0,14	0,23 ± 0,04	1044
trans-Ocimeno	13,12	0,58 ± 0,11	0,12 ± 0,04	0,12 ± 0,07	0,26 ± 0,03	0,47 ± 0,21	0,07 ± 0,04	0,29 ± 0,12	0,11 ± 0,04	1054
γ-Terpineno	13,74	8,19 ± 0,97	2,48 ± 0,55	4,98 ± 1,73	4,59 ± 0,44	4,79 ± 2,44	1,54 ± 0,47	12,38 ± 0,42	3,51 ± 0,18	1068
Terpinoleno	14,93	0,29 ± 0,02	0,09 ± 0,05	0,11 ± 0,04	0,12 ± 0,01	0,19 ± 0,10	0,13 ± 0,04	0,15 ± 0,01	-	1091
Total		44,37 ± 4,07	19,28 ± 7,69	21,73 ± 8,05	39,76 ± 3,35	27,06 ± 12,73	29,20 ± 9,30	35,84 ± 2,85	37,67 ± 5,74	
Monoterpenos oxigenados										
Hidrato de cis-Sabineno	14,37	0,74 ± 0,12	0,75 ± 0,19	0,42 ± 0,16	0,44 ± 0,06	0,63 ± 0,11	1,15 ± 0,16	0,93 ± 0,04	1,15 ± 0,14	1080
Linalol	16,05	3,53 ± 0,70	2,84 ± 0,42	2,14 ± 0,68	2,92 ± 0,61	4,52 ± 0,97	5,14 ± 1,81	4,71 ± 0,38	5,04 ± 0,29	1114
cis-p-Ment-2-en-1-ol	16,58	0,02 ± 0,02	-	-	-	-	-	-	-	1133
Alcanfor	18,16	20,06 ± 1,91	34,71 ± 0,61	22,69 ± 6,07	22,25 ± 2,34	21,27 ± 6,19	30,38 ± 1,02	19,08 ± 1,71	25,83 ± 3,13	1161
Borneol	19,33	9,84 ± 1,98	8,17 ± 2,02	9,60 ± 1,87	9,84 ± 2,50	2,63 ± 0,28	2,98 ± 1,02	3,60 ± 1,71	8,00 ± 1,02	1185
Terpinen-4-ol	19,61	2,34 ± 0,09	3,90 ± 0,12	2,64 ± 0,45	4,87 ± 2,30	2,02 ± 0,15	3,74 ± 0,51	1,99 ± 0,13	2,24 ± 0,31	1190
α-Terpineol	20,31	0,51 ± 0,06	0,78 ± 0,10	0,40 ± 0,12	0,50 ± 0,11	0,79 ± 0,13	1,20 ± 0,16	0,57 ± 0,11	0,50 ± 0,07	1204

4. RESULTADOS

Tabla 12: Continuación monoterpenos oxigenados

Compuesto	Tr	INTR 3				INTR 4				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Monoterpenos oxigenados										
Nerol	21,34	0,01 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-	1235
Neral	21,89	0,05 ± 0,05	-	-	-	-	-	-	-	1249
Acetato de Bornilo	24,16	0,07 ± 0,02	0,26 ± 0,04	0,13 ± 0,08	0,14 ± 0,05	0,07 ± 0,03	0,15 ± 0,05	-	-	1291
Timol	24,16	0,04 ± 0,04	-	0,26 ± 0,26	0,05 ± 0,03	-	0,04 ± 0,04	0,13 ± 0,13	-	1291
Carvacrol	24,77	1,55 ± 0,76	2,52 ± 0,88	9,46 ± 2,38	3,73 ± 0,79	1,03 ± 0,16	0,37 ± 0,21	16,39 ± 1,82	4,78 ± 1,14	1304
Acetato de Carvacrilo	27,49	0,06 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,21 ± 0,03	0,03 ± 0,02	0,12 ± 0,06	0,09 ± 0,03	-	-	1375
Total		38,81 ± 2,98	54,06 ± 2,38	47,95 ± 8,38	44,77 ± 3,35	33,08 ± 5,72	45,24 ± 2,20	47,40 ± 1,83	47,54 ± 3,71	
Sesquiterpenos hidrocarbonados										
β-Bourboneno	28,29	0,10 ± 0,01	0,31 ± 0,04	0,19 ± 0,07	0,11 ± 0,02	0,23 ± 0,13	0,40 ± 0,11	0,04 ± 0,04	0,15 ± 0,09	1387
β-Elemeno	28,57	0,07 ± 0,00	-	-	-	0,06 ± 0,01	0,03 ± 0,03	-	-	1393
α-Gurjuneno	29,30	0,34 ± 0,04	0,42 ± 0,13	0,31 ± 0,21	0,16 ± 0,07	0,26 ± 0,11	0,27 ± 0,05	0,09 ± 0,05	0,07 ± 0,07	1411
β-Cariofileno	29,93	4,34 ± 0,34	6,38 ± 1,48	8,61 ± 2,79	4,64 ± 1,27	7,97 ± 2,47	4,98 ± 1,19	6,42 ± 0,88	4,30 ± 0,57	1427
Aromandreno	30,26	-	-	-	0,07 ± 0,02	-	-	-	-	1442
α-Humuleno	31,25	0,19 ± 0,02	0,20 ± 0,04	0,21 ± 0,10	0,10 ± 0,04	0,34 ± 0,20	0,18 ± 0,05	0,07 ± 0,04	-	1460
allo-Aromadendreno	31,45	0,21 ± 0,03	0,31 ± 0,09	0,31 ± 0,22	0,12 ± 0,04	0,31 ± 0,14	0,48 ± 0,17	-	-	1465
Germacreno D	32,33	1,20 ± 0,12	0,92 ± 0,30	1,11 ± 0,48	0,44 ± 0,09	3,38 ± 2,12	0,38 ± 0,08	1,18 ± 0,19	0,60 ± 0,13	1486
β-Selineno	32,71	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,05	0,11 ± 0,08	-	0,09 ± 0,04	0,07 ± 0,05	-	-	1489
Biciclogermacreno	32,99	4,52 ± 0,39	3,03 ± 0,83	2,94 ± 1,53	1,48 ± 0,37	15,41 ± 7,40	1,47 ± 0,34	3,92 ± 0,63	2,23 ± 0,47	1502
Germacreno A	33,08	0,06 ± 0,01	-	-	-	0,10 ± 0,04	-	-	-	1508
γ-Cadineno	33,35	0,05 ± 0,02	0,31 ± 0,12	0,16 ± 0,12	0,07 ± 0,04	0,17 ± 0,11	0,24 ± 0,06	-	0,03 ± 0,03	1512
δ-Cadineno	33,79	0,32 ± 0,03	0,61 ± 0,27	0,35 ± 0,23	0,16 ± 0,05	0,69 ± 0,44	0,38 ± 0,12	0,08 ± 0,04	0,05 ± 0,05	1524
Total		11,45 ± 0,47	12,57 ± 3,00	14,30 ± 5,74	7,35 ± 1,54	29,01 ± 13,14	8,88 ± 2,18	11,8 ± 1,59	7,43 ± 1,22	

Tabla 12: Continuación

Compuesto	Tr	INTR 3				INTR 4				IK
		Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	Junio	Septiembre	Diciembre	Marzo	
Sesquiterpenos oxigenados										
Palustrol	35,52	0,09 ± 0,01	0,14 ± 0,06	0,18 ± 0,14	-	0,12 ± 0,04	0,12 ± 0,07	-	-	1567
Espatulanol	36,33	1,15 ± 0,25	4,57 ± 1,07	7,81 ± 4,83	3,19 ± 0,32	2,21 ± 0,58	9,29 ± 2,95	2,08 ± 0,28	3,30 ± 0,67	1590
Óxido de Cariofileno	36,42	0,47 ± 0,07	1,66 ± 0,38	1,00 ± 0,48	1,15 ± 0,20	1,90 ± 1,32	0,94 ± 0,19	0,82 ± 0,16	1,56 ± 0,24	1592
Viridiflorol	36,53	0,28 ± 0,05	0,57 ± 0,26	0,14 ± 0,06	0,44 ± 0,07	0,79 ± 0,33	0,14 ± 0,10	0,30 ± 0,04	0,48 ± 0,09	1595
Cariofila-4(14), 8(15)-dien-5-ol	38,27	0,11 ± 0,02	0,43 ± 0,11	0,42 ± 0,25	0,22 ± 0,03	0,33 ± 0,16	0,42 ± 0,12	0,11 ± 0,04	0,15 ± 0,08	1643
<i>epi</i> - α -Muurolol	38,66	0,12 ± 0,02	0,50 ± 0,22	0,80 ± 0,40	0,12 ± 0,04	0,31 ± 0,20	0,59 ± 0,28	-	-	1654
α -Muurolol	38,75	0,14 ± 0,03	0,24 ± 0,10	0,23 ± 0,19	0,09 ± 0,03	0,27 ± 0,16	0,18 ± 0,07	-	-	1657
α -Cadinol	39,10	0,39 ± 0,14	0,72 ± 0,32	0,38 ± 0,27	0,30 ± 0,16	0,95 ± 0,50	0,13 ± 0,07	0,13 ± 0,05	0,09 ± 0,06	1666
Germacra-4(15), 10(14)-trien-1- α -ol	39,84	0,11 ± 0,04	0,22 ± 0,05	0,18 ± 0,10	0,04 ± 0,04	0,16 ± 0,09	0,20 ± 0,05	-	-	1685
Shiobunol	40,16	1,13 ± 0,32	1,39 ± 0,5	1,56 ± 1,03	0,58 ± 0,21	1,01 ± 0,66	0,90 ± 0,32	0,58 ± 0,11	0,67 ± 0,09	1688
Total		3,99 ± 0,82	10,44 ± 2,71	12,70 ± 7,56	6,13 ± 0,81	8,05 ± 4,01	12,91 ± 3,86	4,02 ± 0,41	6,25 ± 1,12	
Otros										
Octen-3-ol	10,27	0,25 ± 0,04	0,08 ± 0,03	0,20 ± 0,07	0,18 ± 0,05	0,15 ± 0,08	0,05 ± 0,02	0,31 ± 0,07	0,21 ± 0,02	989
TOTAL		98,87	96,43	96,88	98,19	97,35	96,28	99,37	99,10	

Promedio \pm error estándar de 4 muestras para cada población y época de muestreo.

Tr: tiempo de retención CG; IK: índice de Kovats

4.3.3. Afinidades fitoquímicas y factores determinantes

Previa reducción de las variables con correlación superior a 0.9 ($P \leq 0,05$), la matriz se somete a un análisis de correspondencias canónico entre los compuestos mayoritarios identificados y los factores ecológicos de las localidades de procedencia (Figura 44), con el fin de determinar la relación entre ellos.

De acuerdo a ello, la presencia del compuesto carvacrol y, en menor medida, la del *p*-cimeno y γ -terpineno (sus precursores), está relacionada positivamente con los índices ombrotérmico (I_o) y de continentalidad (I_c) y con los factores de precipitación (Pp Total) y, con respecto al suelo, con el porcentaje de arena y materia orgánica (M.O.). Esto quiere decir que en aquellas muestras donde la cantidad de carvacrol ha sido elevada, también lo han sido los factores anteriormente citados. A tenor de los resultados obtenidos, los factores más estrechamente relacionados con la cantidad de carvacrol son I_o , % de arena y M.O. (Figura 44). Por tanto, las localidades en las que se han recogido las muestras con un alto contenido en carvacrol están situadas en lugares con una elevada precipitación y baja termicidad.

Asimismo, la proporción de los compuestos biciclogermacreno, β -cariofileno y α -terpineol, está relacionada positivamente con la textura del suelo, siendo la arcilla la proporción más representativa de la misma, estando íntimamente relacionada con la cantidad de sodio y pH, como cabría esperar (Figura 44). Por otro lado, la elaboración del componente limoneno está fuertemente vinculada a la temperatura, como se deduce de la relación con los índices de termicidad (I_t), índice de termicidad compensado (I_{tc}) y temperatura positiva (T_p), y en menor medida a la textura de suelo (limo). Por tanto, aquellas muestras con un alto contenido de limoneno corresponden a ejemplares muestreados en localidades con una alta termicidad y una fuerte textura (franco-limoso).

Por el contrario, existen una serie de compuestos que no quedan notoriamente relacionados con ninguno de los factores ecológicos estudiados en este análisis, como son geraniol, linalol y germacreno D (Figura 44).

La presencia de los compuestos canfeno, alcanfor y borneol, a tenor de los resultados obtenidos, está relacionada directamente con la cantidad de

carbonatos del suelo (CO₃Ca) y en menor medida, con la cantidad de potasio y cal activa (Figura 44).

Los taxones muestreados presentan a su vez una combinación de compuestos característica. A través del análisis discriminante y a partir de la matriz de los compuestos mayoritarios identificados, se obtienen cuatro combinaciones discriminantes, de los que los dos primeros (F1 y F2) absorben un 85,17% de la variabilidad, cuyas ecuaciones son las siguientes:

$$\mathbf{F\ 1\ (eje\ x) = -0,49*alcanfor - 0,07*\alpha\text{-terpineol} - 0,28*\beta\text{-cariofileno} - 0,04*\text{biclogermacreno} - 0,06*\text{borneol} - \mathbf{0,52*canfeno} + \mathbf{1,17*carvacrol} - 0,16*\gamma\text{-terpineno} - 0,17*\text{geraniol} - 0,17*\text{germacreno D} + 0,19*\text{limoneno} - 0,26*\text{linalol} + \mathbf{0,93*p\text{-cimeno}}$$

$$\mathbf{F\ 2\ (eje\ y) = -0,67*alcanfor - 0,08*\alpha\text{-terpineol} + 0,09*\beta\text{-cariofileno} - \mathbf{0,68*biclogermacreno} - 0,32*\text{borneol} - 0,52*canfeno - 0,48*carvacrol - 0,25*\gamma\text{-terpineno} + \mathbf{0,39*geraniol} + \mathbf{0,41*germacreno D} + 0,28*\text{limoneno} + 0,11*\text{linalol} - 0,35*p\text{-cimeno}}$$

El compuesto carvacrol es el de mayor peso en la F1 seguido del *p*-cimeno, canfeno y alcanfor. La F1 es la que más variabilidad absorbe (66,18%), por lo que los compuestos carvacrol y *p*-cimeno son los de mayor peso discriminante en este análisis. Como resultado de estos dos componentes, en el diagrama de las funciones discriminantes (Figura 45) se representa la separación de un primer gran grupo formado por las muestras recogidas en las dos localidades identificadas como *S. montana* (MONT 1 y 2). Este primer grupo (*S. montana*) queda claramente definido desde el punto de vista químico por la gran proporción de estos dos compuestos en el total del aceite esencial analizado. Si establecemos una relación entre los resultados de este análisis con los obtenidos de correspondencias canónicas (Figura 44), se observa que estas dos localidades donde se encuentra la especie *S. montana*, con carvacrol o *p*-cimeno como componentes mayoritarios, están marcadas por un elevado índice ombrotérmico (Io), índice de continentalidad (Ic) y precipitación. Por otra parte, desde el punto de vista de las características edáficas, destacan los suelos con una mayor presencia de textura arenosa y materia orgánica. Efectivamente, las áreas muestreadas de *S. montana* (Culla y San Juan de Peñagolosa), registran datos meteorológicos con

bajas temperaturas y elevadas precipitaciones a lo largo del año. Asimismo, presentan unos suelos de areniscas y un alto contenido de materia orgánica.

La combinación de compuestos que asume la F1 discrimina significativamente la especie *S. montana* del resto. Un segundo grupo de este análisis discriminante es el formado por las muestras de ambas poblaciones identificadas como *S. innota* (INNO 1 y 2) (Figura 45). Los compuestos cuyo coeficiente discriminante tiene un valor patentemente positivo son los que definen este grupo. Así, este grupo queda definido por los compuestos geraniol, germacreno D, limoneno o linalol. Atendiendo al análisis de correspondencias canónico entre los factores ecológicos y los compuestos identificados (Figura 44), se observa que las muestras determinadas como *S. innota*, con geraniol o linalol como compuestos mayoritarios en la composición de su aceite esencial, no presentan afinidad ecológica con los distintos factores ecológicos estudiados, por lo que a tenor de nuestros resultados, esta especie no presenta relación con dichos elementos.

El tercer grupo formado por las muestras correspondientes taxonómicamente a *S. cuneifolia* (Cullera) se diferencia del grupo de la *S. intricata* (Figura 45) por la mayor proporción de los compuestos alcanfor, canfeno o biciclogermacreno, como se desprende de los coeficientes discriminantes (F2). El cuarto grupo, de mayor dispersión, formado por las muestras identificadas como *S. intricata* (INTR 1, 2, 3 y 4) (Figura 45), de una mayor amplitud corológica, queda determinado también por estos compuestos, aunque en una proporción menor. Al cruzar estos resultados con los obtenidos en el análisis de correspondencias canónico (Figura 44), ambas especies, *S. cuneifolia* y *S. intricata*, tendrían un nicho ecológico parecido, marcado fundamentalmente por la presencia de carbonatos en el suelo y por elevados valores de temperatura positiva e índice de termicidad.

Con los compuestos mayoritarios de todas las muestras analizadas se realizó una tabla resumen con los cuatro grupos resultantes del análisis tanto taxonómico (según especies) como fitoquímico (Tabla 13).

El grupo compuesto por todas las muestras identificadas como *S. montana* (MONT 1 y 2) está determinado fitoquímicamente por el compuesto mayoritario carvacrol, seguido de *p*-cimeno. Ambos componentes están en una cantidad significativamente superior ($P \leq 0,05$) al resto de especies

estudiadas (Tabla 13). Por otro lado, la especie *S. cuneifolia* queda definida por el significativamente alto contenido del compuesto alcanfor ($P \leq 0,05$), que la diferencian de las demás. *S. intricata*, también se caracteriza por este compuesto, aunque en una cantidad significativamente inferior a *S. cuneifolia* ($P \leq 0,05$). La especie *S. innota*, por su parte, sin un compuesto mayoritario claro, destaca por la proporción significativamente superior al resto de especies de compuestos como linalol, geraniol o β -cariofileno (Tabla 13).

Tabla 13: Compuestos característicos de los aceites esenciales de las especies de *Satureja* L. estudiadas

	<i>S. montana</i>	<i>S. cuneifolia</i>	<i>S. innota</i>	<i>S. intricata</i>
canfeno ^a	0,25 ± 0,06	11,23 ± 0,78	1,37 ± 0,33	5,01 ± 0,36
<i>p</i> -cimeno	15,80 ± 2,96 a	1,84 ± 0,21 c	0,54 ± 0,12 c	8,25 ± 0,85 b
limoneno ^a	0,23 ± 0,04	3,09 ± 0,31	1,94 ± 0,42	2,95 ± 0,25
γ -terpineno	7,01 ± 1,26 a	2,71 ± 0,25 b	0,50 ± 0,07 c	5,34 ± 0,52 a
linalol	0,97 ± 0,16 c	0,27 ± 0,13 c	11,88 ± 2,69 a	5,23 ± 0,35 b
alcanfor	0,17 ± 0,05 d	40,92 ± 1,26 a	8,40 ± 1,14 c	20,80 ± 1,09 b
borneol	3,12 ± 0,39 b	0,97 ± 0,28 c	0,80 ± 0,17 c	6,06 ± 0,48 a
α -terpineol ^a	0,22 ± 0,11	1,24 ± 0,39	2,49 ± 0,30	3,07 ± 0,52
geraniol	0,76 ± 0,21 b	0,03 ± 0,03 c	9,59 ± 1,93 a	0,00 ± 0,00 c
carvacrol	49,31 ± 3,42 a	0,35 ± 0,11 c	0,24 ± 0,11 c	5,38 ± 0,72 b
β -cariofileno	3,61 ± 0,36 c	2,16 ± 0,19 d	9,25 ± 0,62 a	5,99 ± 0,39 b
germacreno D	0,39 ± 0,08 d	1,36 ± 0,19 b	4,29 ± 0,45 a	1,00 ± 0,13 c
biciclogermacreno	0,49 ± 0,10 c	2,67 ± 0,42 b	5,82 ± 0,75 a	2,85 ± 0,54 b

Diferentes letras en la misma fila indica diferencias estadísticamente significativas

^a Distribución no normal (Test de Levene $\leq 0,05$). No se aplica inferencia estadística

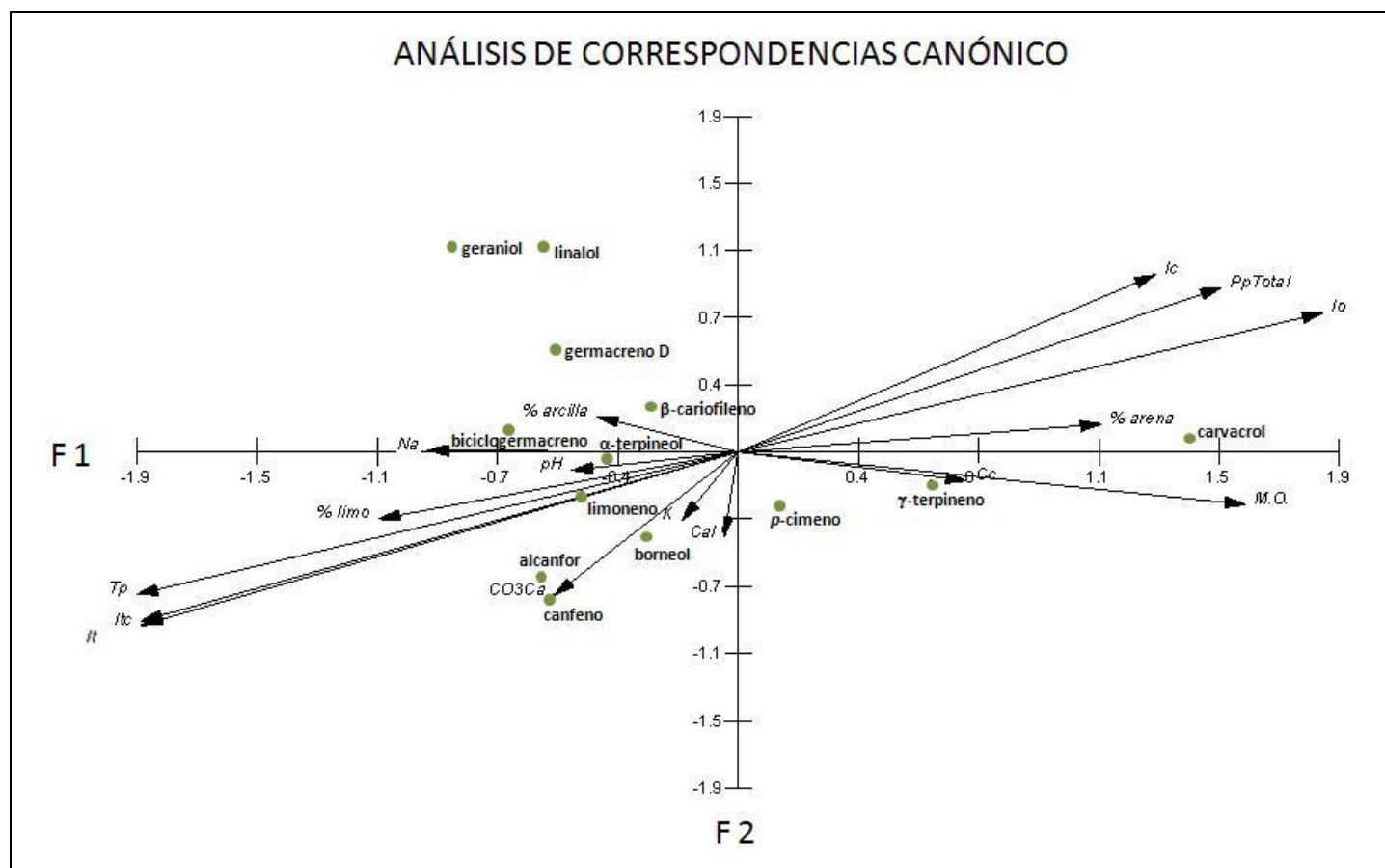


Figura 44. Análisis de correspondencias canónico entre los compuestos y factores ecológicos
Escala del vector: 2,22

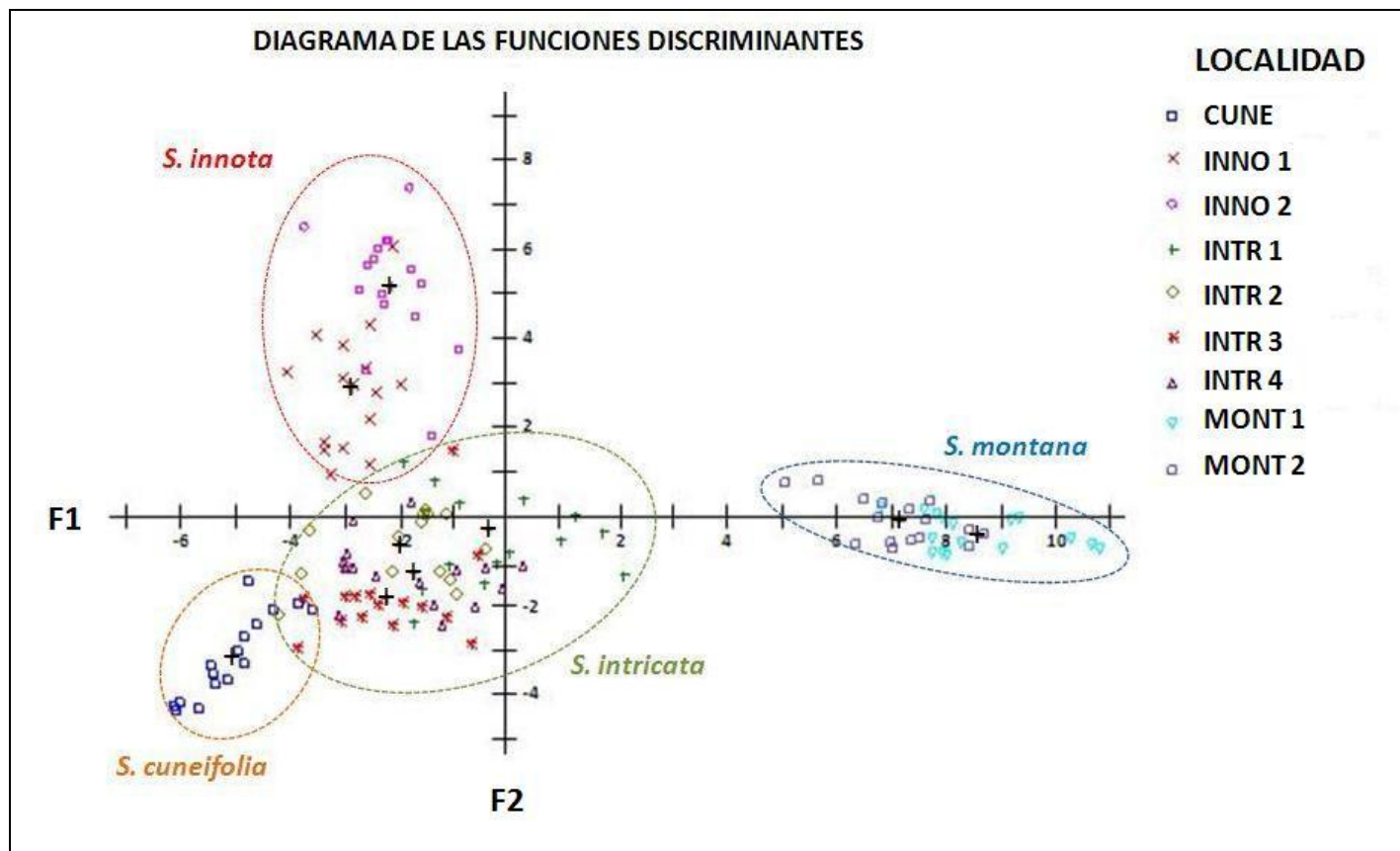


Figura 45. Distribución de las muestras analizadas sobre el plano de las dos primeras funciones discriminantes.
 CUNE: *S. cuneifolia* (Cullera); INNO 1: *S. innota* (Culla); INNO 2: *S. innota* (Sueras); INTR 1 y 2: *S. intricata* (Chiva); INTR 3 y 4: *S. intricata* (Navalón); MONT 1: *S. montana* (Culla); MONT 2: *S. montana* (Peñagolosa)

4.4. Actividad del aceite esencial

4.4.1. Composición del aceite esencial

Los ensayos de actividad se llevaron a cabo con cinco aceites esenciales que proceden de especies recolectadas en septiembre de 2010 con una composición significativamente diferente: *S. montana* (MONT 1), *S. cuneifolia* (CUNE), *S. intricata* (INTR 3) y dos poblaciones de *S. innota* (INNO 1 y 2) (Tabla 14).

En el primer aceite esencial utilizado en los ensayos de actividad, *S. montana* (MONT 1), la fracción monoterpénica oxigenada resultó la de mayor importancia cuantitativa del aceite, donde destacó el compuesto mayoritario, carvacrol (Tabla 14). La siguiente fracción en importancia fue la de los compuestos monoterpénos hidrocarbonados, en la que destacaron los precursores biogénicos del carvacrol *p*-cimeno y γ -terpineno. La fracción sesquiterpénica, tanto hidrocarbonada como oxigenada, tuvo mucha menor importancia.

El segundo de los aceites, proveniente de la especie *S. cuneifolia* (CUNE), presentaba una composición donde nuevamente los monoterpénos oxigenados fueron la fracción de mayor importancia, debido principalmente al compuesto mayoritario de este aceite, alcanfor (Tabla 14). De entre los compuestos monoterpénos hidrocarbonados, que conformaron la segunda fracción en importancia, destacó el compuesto canfeno.

De la especie *S. innota*, se obtuvieron los aceites esenciales de ambas poblaciones, INNO 1 y 2, debido a las diferencias encontradas en la composición de los mismos (véase apartado 4.3.2.3., Tabla 10). En el primer aceite (INNO 1), la fracción monoterpénica hidrocarbonada fue la de mayor importancia, destacando el compuesto mayoritario de este aceite, mirceno (Tabla 14). La siguiente fracción en importancia fue la monoterpénica oxigenada en la que destacaron los compuestos alcanfor y linalol. De similar importancia cuantitativa fue la serie sesquiterpénica hidrocarbonada, en donde cabe resaltar el compuesto β -cariofileno.

Tabla 14: Composición de los aceites esenciales utilizados en los ensayos de actividad

Compuesto	Tr	Área					IK
		MONT 1	CUNE	INNO 1	INNO 2	INTR 3	
Monoterpenos hidrocarbonados							
Triciclono	7,73	-	0,34 ± 0,06	0,06 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,28 ± 0,01	929
α-Tujeno	7,87	0,67 ± 0,11	0,34 ± 0,05	0,45 ± 0,07	0,08 ± 0,02	0,63 ± 0,01	933
α-Pineno	8,18	0,54 ± 0,09	5,71 ± 0,82	2,60 ± 0,30	1,28 ± 0,34	5,91 ± 0,26	941
Canfeno	8,86	0,48 ± 0,06	13,58 ± 1,37	3,71 ± 0,41	1,65 ± 0,38	9,79 ± 0,35	958
Sabineno	9,80	0,11 ± 0,01	0,53 ± 0,02	0,64 ± 0,06	0,40 ± 0,05	0,48 ± 0,04	979
β-Pineno	9,85	0,16 ± 0,02	1,94 ± 0,14	0,83 ± 0,09	0,35 ± 0,07	1,51 ± 0,07	980
Mirceno	10,55	1,54 ± 0,14	1,38 ± 0,06	21,58 ± 1,7	8,48 ± 0,68	8,33 ± 0,72	995
α-Felandreno	10,94	0,19 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,01 ± 0,01	1010
α-Terpineno	11,74	1,86 ± 0,16	0,96 ± 0,02	0,63 ± 0,10	0,71 ± 0,07	0,66 ± 0,04	1024
p-Cimeno	12,20	21,57 ± 1,18	2,96 ± 0,11	0,88 ± 0,15	0,63 ± 0,08	11,16 ± 0,5	1035
Limoneno	12,39	0,62 ± 0,04	3,47 ± 0,38	3,33 ± 0,82	6,40 ± 0,79	4,33 ± 0,27	1039
cis-Ocimeno	12,65	0,10 ± 0,04	0,25 ± 0,03	2,45 ± 0,31	1,16 ± 0,13	0,20 ± 0,02	1044
trans-Ocimeno	13,12	0,05 ± 0,02	0,15 ± 0,02	1,68 ± 0,21	0,80 ± 0,09	0,13 ± 0,02	1054
γ-Terpineno	13,74	14,72 ± 1,29	2,61 ± 0,08	1,60 ± 0,20	1,68 ± 0,15	6,21 ± 0,12	1068
Terpinoleno	14,93	0,14 ± 0,01	0,51 ± 0,03	-	0,46 ± 0,05	-	1091
Total		42,75 ± 2,56	34,79 ± 2,46	40,47 ± 3,71	24,12 ± 2,57	49,63 ± 1,21	
Monoterpenos oxigenados							
1,8-Cineol	12,51	0,42 ± 0,02	0,08 ± 0,02	0,43 ± 0,23	0,21 ± 0,04	-	1041
Hidrato de <i>cis</i> -Sabineno	14,37	0,33 ± 0,08	0,36 ± 0,04	1,32 ± 0,07	0,59 ± 0,05	0,25 ± 0,03	1080
Óxido de <i>trans</i> -Linalol	14,63	-	-	0,42 ± 0,05	-	0,30 ± 0,02	1090
Linalol	16,05	1,27 ± 0,08	1,13 ± 0,09	7,54 ± 2,77	5,36 ± 0,95	1,79 ± 0,07	1114
Alcanfor	18,16	0,39 ± 0,15	47,61 ± 1,03	10,35 ± 0,85	6,87 ± 1,20	23,26 ± 1,98	1161
Borneol	19,33	2,01 ± 0,10	1,21 ± 0,14	0,24 ± 0,04	1,30 ± 0,20	6,88 ± 0,44	1185
Terpinen-4-ol	19,61	0,96 ± 0,04	3,95 ± 0,13	1,92 ± 0,24	2,50 ± 0,16	2,62 ± 0,28	1190
p-Cimen-8-ol	19,91	-	0,13 ± 0,01	-	-	-	1200
α-Terpineol	20,31	0,04 ± 0,01	0,55 ± 0,05	1,69 ± 0,29	2,37 ± 0,32	0,44 ± 0,05	1204
trans-Piperitol	21,45	-	0,07 ± 0,01	-	-	-	1232
Nerol	21,34	-	-	0,09 ± 0,02	0,87 ± 0,21	-	1235
Neral	21,89	-	-	0,07 ± 0,01	0,55 ± 0,13	-	1249
Carvacrol metil éter	22,75	0,42 ± 0,23	-	-	-	-	1266
Geraniol	22,83	-	0,02 ± 0,01	1,00 ± 0,30	10,68 ± 2,77	-	1261
Geranial	23,31	-	0,07 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,56 ± 0,12	-	1278
Acetato de Bornilo	24,16	-	0,4 ± 0,04	0,02 ± 0,01	0,15 ± 0,04	0,09 ± 0,01	1291
Timol	24,16	1,08 ± 0,61	-	-	0,01 ± 0,01	0,03 ± 0,03	1291
Carvacrol	24,77	39,21 ± 1,83	0,13 ± 0,05	-	0,29 ± 0,09	1,38 ± 0,21	1304
Acetato de Carvacrilo	27,49	0,48 ± 0,05	-	-	-	-	1375
Acetato de Nerilo	27,12	-	-	0,04 ± 0,04	0,21 ± 0,05	-	1366
Acetato de Geranilo	27,99	-	-	1,60 ± 0,74	-	0,15 ± 0,05	1386
Total		46,61 ± 2,57	55,71 ± 1,47	26,78 ± 2,79	32,52 ± 1,45	37,19 ± 2,51	

Tabla 14: Continuación

Compuesto	Tr	Área					IK
		MONT 1	CUNE	INNO 1	INNO 2	INTR 3	
Sesquiterpenos hidrocarbonados							
α -Copaeno	27,94	-	-	0,41 \pm 0,05	0,43 \pm 0,01	0,09 \pm 0,03	1379
β -Bourboneno	28,29	0,08 \pm 0,01	0,59 \pm 0,06	-	5,88 \pm 1,30	-	1387
β -Elemeno	28,57	-	-	0,37 \pm 0,04	0,20 \pm 0,02	-	1393
α -Gurjuneno	29,30	-	-	0,79 \pm 0,12	0,29 \pm 0,02	0,33 \pm 0,09	1411
β -Cariofileno	29,93	3,41 \pm 0,18	2,45 \pm 0,19	10,42 \pm 0,45	13,29 \pm 0,43	5,18 \pm 0,65	1427
β -Copaeno	29,95	-	0,03 \pm 0,02	0,24 \pm 0,03	0,21 \pm 0,01	-	1433
Aromandreno	30,26	0,53 \pm 0,07	0,10 \pm 0,01	0,15 \pm 0,02	0,24 \pm 0,09	0,08 \pm 0,03	1442
α -Humuleno	31,25	0,04 \pm 0,02	0,06 \pm 0,02	0,57 \pm 0,09	0,50 \pm 0,11	0,24 \pm 0,08	1460
<i>allo</i> -Aromadendreno	31,45	0,05 \pm 0,03	0,02 \pm 0,02	0,41 \pm 0,06	0,38 \pm 0,02	0,15 \pm 0,06	1465
Germacreno D	32,33	1,45 \pm 0,15	0,92 \pm 0,14	5,76 \pm 0,56	5,65 \pm 0,41	0,57 \pm 0,13	1486
β -Selineno	32,71	0,03 \pm 0,02	-	0,22 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01	0,06 \pm 0,02	1489
Biclogermacreno	32,99	0,58 \pm 0,07	2,45 \pm 0,32	4,97 \pm 1,17	5,21 \pm 0,26	1,89 \pm 0,41	1502
Germacreno A	33,08	-	-	0,75 \pm 0,31	-	-	1508
β -Bisaboleno	33,02	0,99 \pm 0,10	-	-	-	-	1505
γ -Cadineno	33,35	0,13 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,46 \pm 0,03	0,93 \pm 0,11	0,13 \pm 0,04	1512
δ -Cadineno	33,79	0,24 \pm 0,01	0,30 \pm 0,03	1,05 \pm 0,07	1,46 \pm 0,21	0,36 \pm 0,07	1524
Total		7,53 \pm 0,33	7,04 \pm 0,72	26,57 \pm 1,48	34,8 \pm 1,4	9,08 \pm 1,59	
Sesquiterpenos oxigenados							
Palustrol	35,52	-	-	0,26 \pm 0,06	0,05 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02	1567
Espatuleno	36,33	0,35 \pm 0,03	0,70 \pm 0,09	1,33 \pm 0,24	1,88 \pm 0,13	1,25 \pm 0,24	1590
Óxido de Cariofileno	36,42	1,16 \pm 0,16	0,38 \pm 0,04	1,07 \pm 0,19	2,11 \pm 0,17	1,11 \pm 0,13	1592
Viridiflorol	36,53	-	0,19 \pm 0,03	0,41 \pm 0,07	0,38 \pm 0,03	0,27 \pm 0,05	1595
Cariofila-4(14), 8(15)-dien-5-ol	38,27	-	0,03 \pm 0,02	0,17 \pm 0,03	0,25 \pm 0,02	0,13 \pm 0,02	1643
<i>epi</i> - α -Muurolol	38,66	-	0,02 \pm 0,01	0,23 \pm 0,04	0,42 \pm 0,03	0,10 \pm 0,02	1654
α -Muurolol	38,75	-	-	0,14 \pm 0,03	0,24 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02	1657
α -Cadinol	39,10	-	0,07 \pm 0,02	0,39 \pm 0,06	0,67 \pm 0,03	0,16 \pm 0,02	1666
Germacra-4(15),5, 10(14)-trien-1- α -ol	39,84	-	-	0,10 \pm 0,04	0,15 \pm 0,03	-	1685
Shiobunol	40,16	-	-	0,80 \pm 0,28	0,20 \pm 0,04	0,23 \pm 0,05	1688
Total		1,51 \pm 0,18	1,39 \pm 0,20	4,90 \pm 0,89	6,35 \pm 0,37	3,29 \pm 0,52	
Otros							
Octen-3-ol	10,27	0,38 \pm 0,03	0,13 \pm 0,01	0,06 \pm 0,02	0,09 \pm 0,02	0,20 \pm 0,01	989
TOTAL		98,78	99,06	98,78	97,88	99,39	

Por otro lado, en la segunda población de la que se extrajo el aceite esencial de esta especie (INNO 2), los compuestos sesquiterpenos hidrocarbonados constituyeron la fracción mayoritaria. El componente β -cariofileno resultó el mayoritario. Le siguió la serie monoterpénica oxigenada, con los compuestos geraniol, alcanfor y linalol como los más abundantes. En la serie monoterpénica hidrocarbonada, destacó el compuesto mirceno. La fracción de menor importancia volvió a ser la formada por los compuestos sesquiterpenos oxigenados.

De las cuatro localidades de *S. intricata* se escogió una de ellas (INTR 3, en Navalón a 641 m) para la realización de los ensayos de actividad. La primera de las series terpénicas, formada por los compuestos monoterpénos hidrocarbonados, fue la mayoritaria de la esencia, destacando entre ellos los compuestos *p*-cimeno, canfeno, mirceno, γ -terpineno y α -pineno. En la siguiente fracción, monoterpénica oxigenada, se encontró el compuesto mayoritario de la esencia: alcanfor. Las otras dos fracciones, sesquiterpénica hidrocarbonada y oxigenada, tuvieron menor representación cuantitativa en el aceite esencial (Tabla 14).

4.4.2. Actividad fitotóxica *in vitro* de los aceites esenciales.

4.4.2.1. *S. montana* L.

El potencial herbicida del aceite esencial de *S. montana* se ensayó *in vitro* frente a *Amaranthus hybridus*, *Portulaca oleracea* y *Conyza canadensis*. Se evaluaron los efectos del aceite esencial sobre la germinación (Tabla 15) y el crecimiento (Tabla 16) de dichas arvenses.

El aceite esencial de *S. montana* mostró un gran efecto inhibitorio dosis-dependencia sobre la germinación de las tres arvenses, siendo activas todas las dosis ensayadas, que redujeron la germinación significativamente con respecto al control (Tabla 15). Sobre las semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* no se mostraron diferencias entre las distintas dosis ensayadas, observándose una inhibición total en *P. oleracea* y una inhibición del 95.5% a la menor dosis ensayada hasta una inhibición completa con las otras tres concentraciones en el caso de *C. canadensis*. *A. hybridus* sí que mostró diferencias significativas entre concentraciones, reduciendo la germinación desde un 91% en la primera concentración (0.125 μ L/mL), un 94% en la

segunda (0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$), un 99% en la tercera (0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$), e inhibiendo completamente la germinación en la concentración más alta (1 $\mu\text{L}/\text{mL}$).

Tabla 15. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *S. montana*

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Germinación (%) \pm e.s.		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	81.0 \pm 3.7a	83.0 \pm 3.7a	89.0 \pm 2.9a
0.125	7.0 \pm 3.4b	0.0 \pm 0.0b	4.0 \pm 4.0b
0.250	5.0 \pm 3.9bc	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0b
0.5	1.0 \pm 1.0bc	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0b
1	0.0 \pm 0.0c	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0b

En cuanto a los efectos del aceite esencial sobre el crecimiento de las plántulas, dado que el aceite de *S. montana* inhibió completamente la germinación de *P. oleracea* a todas las concentraciones y la de *C. canadensis* a las tres concentraciones superiores ensayadas, únicamente hubo datos de longitud de las plántulas control y de la concentración de 0.125 $\mu\text{L}/\text{mL}$, sobre esta última especie, observándose una reducción del crecimiento del 94.8% (Tabla 16). En *A. hybridus*, la longitud de las plántulas se redujo un 76.8, 67.3 y 98.5% al aplicar las concentraciones de 0.125, 0.25 y 0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas.

Tabla 16. Efecto del aceite esencial de *S. montana* sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Longitud (mm \pm e.s.)		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	25.18 \pm 0.99a	8.08 \pm 0.90	5.81 \pm 0.41a
0.125	5.84 \pm 3.23b	-	0.30 \pm 0.06b
0.250	8.24 \pm 5.22b	-	-
0.5	0.37 \pm 0.37b	-	-
1	-	-	-

4.4.2.2. *S. cuneifolia* Ten.

El aceite esencial de *S. cuneifolia* se ensayó del mismo modo sobre *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* para verificar su potencial herbicida. El aceite esencial mostró un gran potencial herbicida sobre *A. hybridus* y *C. canadensis* (Tabla 17). En ambas especies se inhibió significativamente la germinación desde un 95.1% hasta un 100% en *A. hybridus* y entre un 96.6% en las dos primeras concentraciones hasta el 100% en las dos concentraciones superiores de aceite esencial en el caso de *C. canadensis*. En cambio, frente a *P. oleracea*, las dos concentraciones más bajas no tuvieron un efecto significativo sobre la germinación, reduciéndola un 24,1% (concentración 0.125 $\mu\text{L}/\text{mL}$) y un 19.3% (concentración de 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$), mientras que las concentraciones más altas (0.5 y 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$) sí mostraron diferencias significativas con el control, inhibiendo la germinación un 30.5% y 36.3%, respectivamente.

Tabla 17. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *S. cuneifolia*

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Germinación (%) \pm e.s.		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	81.0 \pm 3.7a	83.0 \pm 3.7a	89.0 \pm 2.9a
0.125	0.0 \pm 0.0b	63.0 \pm 7.2ab	3.0 \pm 2.0b
0.250	4.0 \pm 2.9b	67.0 \pm 6.8ab	3.0 \pm 2.0b
0.5	1.0 \pm 1.0b	57.7 \pm 11.3b	0.0 \pm 0.0b
1	0.0 \pm 0.0b	52.9 \pm 4.6b	0.0 \pm 0.0b

El aceite esencial de *S. cuneifolia* mostró efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las tres arvenses sobre las que se aplicó, *P. oleracea* (Figura 46), *A. hybridus* y *C. canadensis* (Tabla 18). Resultaron significativas las diferencias observadas en la longitud de las plántulas control y la longitud de las plántulas tratadas con todas las concentraciones del aceite en las especies *A. hybridus* y *C. canadensis*. En *P. oleracea*, la inhibición de la longitud de las plántulas tratadas con la concentración de 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ no resultó significativa, reduciéndose en un 26.9%. Sí resultó significativo el efecto sobre esta especie en las concentraciones de 0.125 0.5 y 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$, disminuyendo en un 38.6, 51.1 y 50.6% la longitud de las plántulas, respectivamente.

Tabla 18. Efecto del aceite esencial de *S. cuneifolia* sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Longitud (mm \pm e.s.)		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	25.18 \pm 0.99a	8.08 \pm 0.90a	5.81 \pm 0.41a
0.125	-	4.96 \pm 1.07b	1.03 \pm 0.63b
0.250	0.63 \pm 0.39b	5.91 \pm 0.79ab	0.62 \pm 0.43b
0.5	1.90 \pm 1.90b	3.95 \pm 0.94b	-
1	-	3.99 \pm 0.97b	-

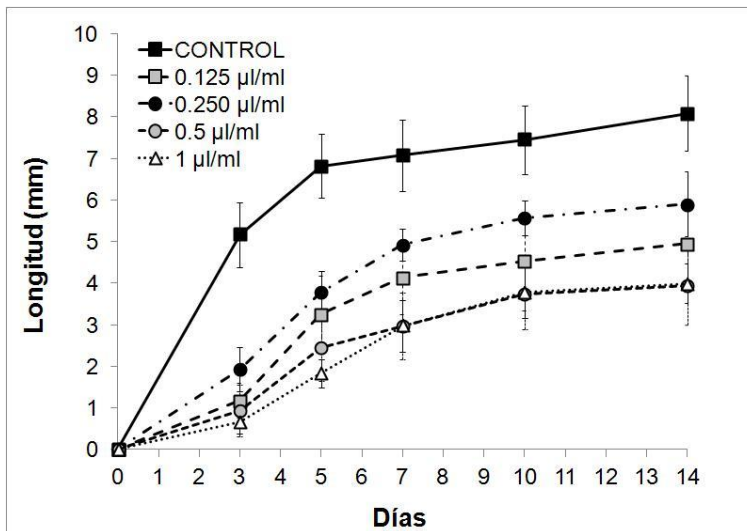


Figura 46. Efecto del aceite esencial de *S. cuneifolia* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea*.

4.4.2.3. *S. innota* (Pau) G. López

Debido a las diferencias encontradas en la composición del aceite esencial entre las dos localidades de *S. innota* (Tabla 10), se seleccionó el aceite esencial de ambas poblaciones para las pruebas de actividad herbicida.

El aceite esencial obtenido de la primera localidad de esta especie, INNO 1 (Culla), mostró un potencial herbicida significativo sobre *A. hybridus* y *C. canadensis* en todas las concentraciones ensayadas (Tabla 19). En *A. hybridus*, el aceite esencial aplicado redujo la germinación en un 96.3 y 98.8% en las dos primeras concentraciones (0.125 y 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$), inhibiendo totalmente la germinación en las otras dos (0.5 y 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$). También controló completamente la germinación de *C. canadensis* a la mayor concentración, reduciéndola de manera concentración-dependiente en un 85.4, 93.3 y 98.9% en el resto de concentraciones ensayadas. En *P. oleracea* (Tabla 19), no resultó significativa la inhibición de la germinación en las dos primeras concentraciones, reduciendo la misma en un 24.1 y 9.6%, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas. Las dos concentraciones más altas sí redujeron significativamente la germinación en un 32.9 (0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$) y 44.5% (1 $\mu\text{L}/\text{mL}$).

Tabla 19. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *S. innota* (INNO 1)

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Germinación (%) \pm e.s.		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	81.0 \pm 3.7a	83.0 \pm 3.7a	89.0 \pm 2.9a
0.125	3.0 \pm 2.0b	63.0 \pm 6.8abc	13.0 \pm 4.6b
0.250	1.0 \pm 1.0b	75.0 \pm 6.9ab	6.0 \pm 6.0c
0.5	0.0 \pm 0.0b	55.7 \pm 11.6bc	1.0 \pm 1.0c
1	0.0 \pm 0.0b	46.1 \pm 10.6c	0.0 \pm 0.0c

A pesar de no haber mostrado efectos significativos sobre la germinación de *P. oleracea* en las dos primeras concentraciones, el aceite esencial de INNO 1 controló su crecimiento, reduciéndolo desde un 48.3 hasta un 75.7% (Tabla 20, Figura 47). Todas las dosis probadas mostraron efectos inhibitorios significativos con respecto al control, sin haber diferencias entre las 3 menores, pero sí fueron significativas las diferencias entre las dos primeras dosis y la máxima aplicada.

El aceite esencial mostró un fuerte efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *A. hybridus* (al igual que sobre su germinación). Las dos concentraciones tuvieron un efecto significativo, reduciendo la longitud de las mismas en un 78.7% (0.125 $\mu\text{L}/\text{mL}$) y 97.8% (0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$), sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 20). También en *C. canadensis* el aceite

esencial tuvo un gran efecto inhibitorio en su crecimiento en todas las concentraciones aplicadas, mostrando un efecto significativo con respecto al control, sin diferencias entre ellas, con una reducción que fue desde un 75.2 a un 93.6% (Tabla 20).

Tabla 20. Efecto del aceite esencial de *S. innota* (INNO 1) sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Longitud (mm \pm e.s.)		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	25.18 \pm 0.99a	8.08 \pm 0.90a	5.81 \pm 0.41a
0.125	5.36 \pm 4.25b	4.18 \pm 0.65b	1.44 \pm 0.06b
0.250	0.55 \pm 0.55b	3.95 \pm 0.69b	0.61 \pm 0.61b
0.5	-	3.36 \pm 0.44bc	0.37 \pm 0.37b
1	-	1.96 \pm 0.24c	-

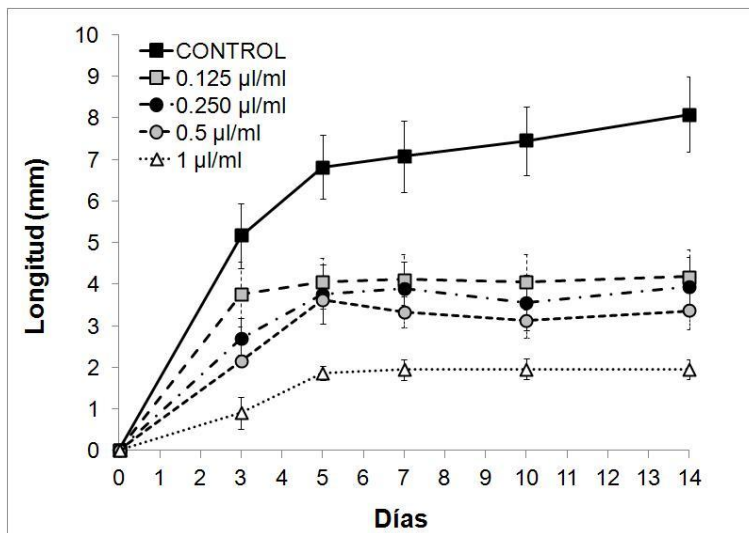


Figura 47. Efecto del aceite esencial de *S. innota* (INNO 1) sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea*.

Para verificar el potencial herbicida del aceite esencial de la segunda población de *S. innota* (INNO 2), también se ensayó *in vitro* sobre *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*, mostrando en este caso un gran poder inhibitorio de la germinación en *A. hybridus* (Tabla 21). En este aceite, las concentraciones de 0.125, 0.25 y 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ inhibieron completamente su

germinación, mientras que la de 0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ la redujo un 98.8%, sin ser significativas estas diferencias. Frente a la germinación de *P. oleracea* y *C. canadensis*, el aceite esencial de *S. innota* procedente de Sueras no fue tan activo, aunque sí mostró diferencias significativas entre los tratamientos y el control. En *P. oleracea* redujo la germinación desde un 43.4% hasta un 96.5%, mientras que en *C. canadensis* lo hizo desde un 73.0 hasta un 97.8% (Tabla 21).

Tabla 21. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *S. innota* (INNO 2)

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Germinación (%) \pm e.s.		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	81.0 \pm 3.7a	83.0 \pm 3.7a	89.0 \pm 2.9a
0.125	0.0 \pm 0.0b	47.0 \pm 8.7b	24.0 \pm 5.3b
0.250	0.0 \pm 0.0b	53.0 \pm 5.8b	23.0 \pm 2.0b
0.5	1.0 \pm 1.0b	22.7 \pm 8.5c	23.7 \pm 4.9b
1	0.0 \pm 0.0b	2.9 \pm 2.0d	2.0 \pm 1.2c

El aceite se mostró muy efectivo en cuanto al crecimiento de plántulas (Tabla 22) de *A. hybridus*, reduciendo la longitud en la única concentración donde hubo crecimiento (0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$) en un 98.3%. También mostró un efectivo significativo sobre el crecimiento de las plántulas de *P. oleracea*, reduciendo desde un 76.7% hasta un 95.7% (Figura 48). Asimismo, se mostró significativa la inhibición en el crecimiento de plántulas de *C. canadensis* tratadas con dicho aceite esencial a todas las concentraciones. Entre las dos primeras no hubo diferencias significativas inhibiendo un 35.6% y 44.2% respectivamente, mientras que la concentración de 0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ lo hacía en un 67.8% y la de 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ en un 89.7% (Figura 49).

Tabla 22. Efecto del aceite esencial de *S. innota* (INNO 2) sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Longitud (mm \pm e.s.)		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	25.18 \pm 0.99a	8.08 \pm 0.90a	5.81 \pm 0.41a
0.125	-	1.88 \pm 0.14bc	3.74 \pm 0.66b
0.250	-	2.40 \pm 0.65b	3.24 \pm 0.25b
0.5	0.44 \pm 0.44b	1.43 \pm 0.55bc	1.87 \pm 0.16c
1	-	0.35 \pm 0.21c	0.60 \pm 0.38d

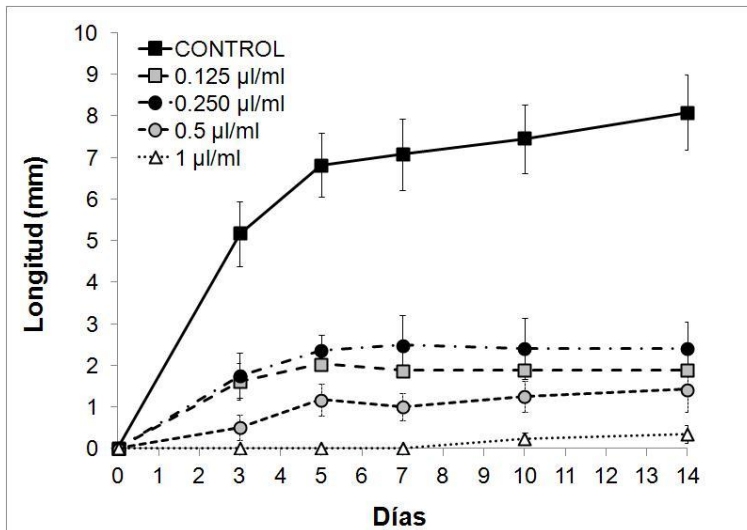


Figura 48. Efecto del aceite esencial de *S. innota* (INNO 2) sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea*.

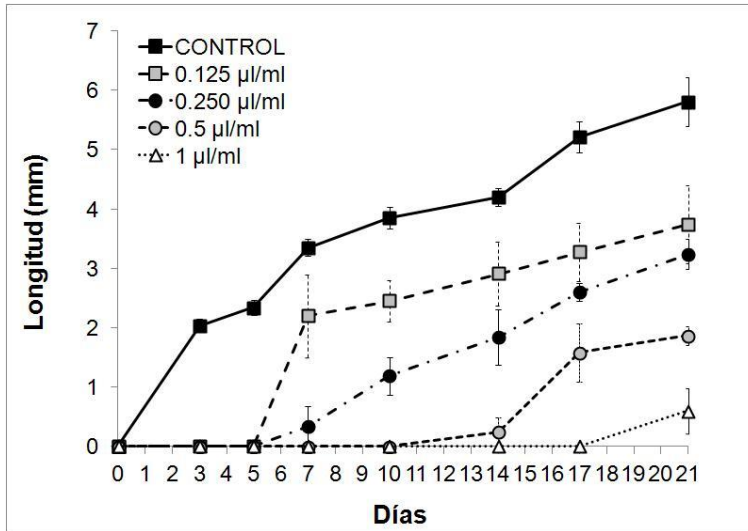


Figura 49. Efecto del aceite esencial de *S. innota* (INNO 2) sobre el crecimiento de plántulas de *C. canadensis*.

4.4.2.4. *S. intricata* Lange

El aceite esencial de *S. intricata* (INTR 3) prácticamente inhibió completamente la germinación de *A. hybridus* a todas las concentraciones. Se observó una ligera germinación, no significativa, a la concentración de 0.5 µL/mL, obteniéndose en este caso una inhibición de la germinación del 98.8% (Tabla 23). Sobre *P. oleracea* no tuvo efecto inhibitorio significativo en las tres primeras concentraciones, donde llegó a reducir hasta un 33.7% a la concentración menor (0.125 µL/mL). La concentración mayor sí que redujo significativamente la germinación hasta un 38.6%, sin diferencias entre ésta y las demás concentraciones. En *C. canadensis*, las dos concentraciones menores no mostraron diferencias significativas entre ellas, reduciendo la germinación en un 55.1 y 70.8%, respectivamente. Las otras dos concentraciones (0.5 y 1 µL/mL), sin diferencias entre ellas, inhibieron la germinación en un 97.7% y 97.8% respectivamente.

Tabla 23. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *S. intricata*

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Germinación (%) \pm e.s.		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	81.0 \pm 3.7a	83.0 \pm 3.7a	89.0 \pm 2.9a
0.125	0.0 \pm 0.0b	55.0 \pm 11.1ab	40.0 \pm 8.5b
0.250	0.0 \pm 0.0b	63.0 \pm 6.6ab	26.0 \pm 13.5b
0.5	1.0 \pm 1.0b	64.0 \pm 4.8ab	2.1.0 \pm 2.0c
1	0.0 \pm 0.0b	51.0 \pm 14.2b	2.0 \pm 1.2c

El aceite esencial se mostró muy efectivo en cuanto al crecimiento de plántulas (Tabla 24) de *A. hybridus*, reduciendo la longitud en la única concentración donde hubo crecimiento (0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$) en un 99.8%. En *P. oleracea* no se observó un efecto significativo en el crecimiento en las dos primeras concentraciones, reduciéndolo en un 13.4% a la menor concentración (0.125 $\mu\text{L}/\text{mL}$) y en un 20.2% en 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Sí mostró efecto con las otras dos concentraciones, llegando a reducir hasta un 70.5% en la concentración mayor (1 $\mu\text{L}/\text{mL}$, Figura 50). También tuvo un efecto significativo el aceite sobre *C. canadensis* (Figura 51) en todas las concentraciones ensayadas, reduciendo la longitud de las plántulas desde un 77,9% (0.125 $\mu\text{L}/\text{mL}$) hasta un 99.2% (concentraciones de 0.5 y 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$).

Tabla 24. Efecto del aceite esencial de *S. intricata* sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Longitud (mm \pm e.s.)		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	20.53 \pm 1.79a	8.08 \pm 0.90a	5.17 \pm 0.39a
0.125	-	7.00 \pm 0.44a	1.14 \pm 0.29b
0.250	-	6.45 \pm 0.27ab	0.50 \pm 0.26bc
0.5	0.04 \pm 0.04b	4.88 \pm 0.59b	0.04 \pm 0.04c
1	-	2.38 \pm 0.73c	0.04 \pm 0.03c

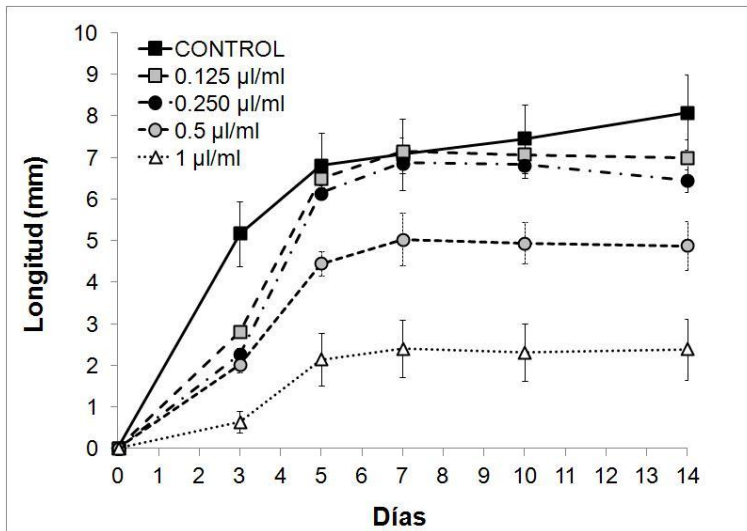


Figura 50. Efecto del aceite esencial de *S. intricata* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea*.

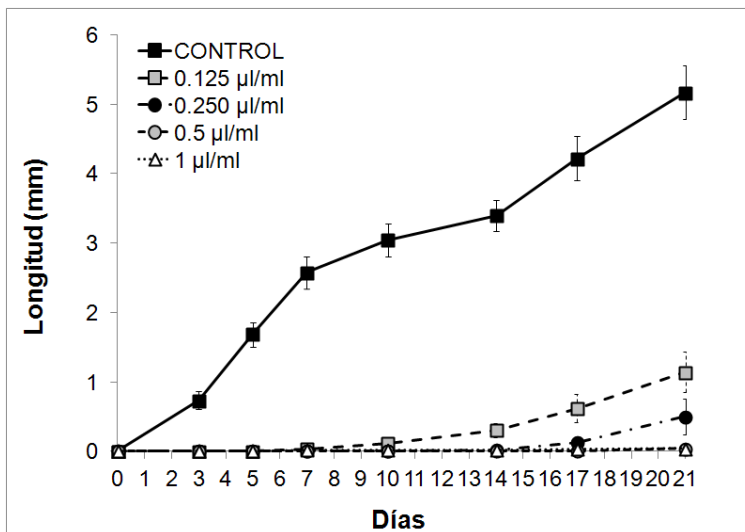


Figura 51. Efecto del aceite esencial de *S. intricata* sobre el crecimiento de plántulas de *C. canadensis*.

4.4.2.5. Carvacrol

Dado que el aceite esencial que mayor efecto mostró a nivel general fue el obtenido de *S. montana*, se ensayó el potencial herbicida del carvacrol, compuesto mayoritario del mismo (Tabla 8), a la misma concentración que el aceite esencial, con el fin de observar si la actividad fitotóxica era debida a dicho compuesto o existía un efecto sinérgico entre el resto de componentes.

Se ensayó *in vitro* sobre *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*, al igual que en el resto de ensayos. El carvacrol mostró gran actividad en la germinación de *P. oleracea* y *C. Canadensis*, impidiendo la misma en todas las concentraciones aplicadas (Tabla 25). En *A. hybridus* redujo la germinación en un 96.3% en la concentración menor (0.125 $\mu\text{L}/\text{mL}$), inhibiéndola totalmente en el resto de concentraciones. Se evaluaron los efectos del carvacrol sobre el crecimiento de las plántulas de *A. hybridus* que habían germinado en la primera concentración (Tabla 26), constatándose una reducción en el crecimiento del 83.6%.

Tabla 25. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con carvacrol.

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Germinación (%) \pm e.s.		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	81.0 \pm 3.7a	83.0 \pm 3.7a	89.0 \pm 2.9a
0.125	3.0 \pm 2.0b	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0b
0.250	0.0 \pm 0.0c	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0b
0.5	0.0 \pm 0.0c	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0b
1	0.0 \pm 0.0c	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0b

Tabla 26. Efecto del carvacrol sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*

Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Longitud (mm \pm e.s.)		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	25.18 \pm 0.99a	8.08 \pm 0.90	5.81 \pm 0.41
0.125	4.12 \pm 3.64b	-	-
0.250	-	-	-
0.5	-	-	-
1	-	-	-

4.4.3. Actividad fungicida *in vitro* de los aceites esenciales

4.4.3.1. *S. montana* L.

La actividad fungicida del aceite esencial de *S. montana* se determinó mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar con respecto al control con etanol (Tabla 27) al sexto día de la siembra, según la fórmula descrita en el apartado 3.5.3.4.

Tabla 27. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de *S. montana* (MONT 1) respecto al control con etanol

Oomiceto/Hongo	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
	Inhib. (%)			
<i>P. citrophthora</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	87,95 ± 0,82 b	100,00 ± 0,00 c
<i>P. palmivora</i>	2,09 ± 0,92 a	3,02 ± 1,19 a	65,56 ± 1,57 b	100,00 ± 0,00 c
<i>Py. litorale</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	72,10 ± 7,58 b	100,00 ± 0,00 c
<i>C. gloeosporioides</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	29,62 ± 1,64 b	100,00 ± 0,00 c
<i>Cy. liriodendri</i>	0,67 ± 0,41 a	3,10 ± 1,32 a	27,20 ± 8,30 b	100,00 ± 0,00 c
<i>Cy. macrodidymum</i>	1,67 ± 0,91 a	9,00 ± 1,25 b	51,33 ± 3,67 c	100,00 ± 0,00 d
<i>Pe. hirsutum</i>	1,23 ± 0,76 a	8,90 ± 1,06 b	17,36 ± 2,56 c	100,00 ± 0,00 d
<i>Pa. chlamydospora</i>	8,75 ± 7,29 a	6,87 ± 4,00 a	100,00 ± 0,00 b	100,00 ± 0,00 b
<i>Pm. aleophilum</i>	4,04 ± 3,05 a	4,04 ± 3,05 a	57,30 ± 2,86 b	100,00 ± 0,00 c
<i>R. solani</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
<i>V. dahliae</i>	1,13 ± 0,28 a	4,93 ± 1,57 b	71,83 ± 1,11 c	100,00 ± 0,00 d

Misma letra entre valores de la misma línea indica que no hay diferencias estadísticas

El aceite esencial de *S. montana* (MONT 1) inhibió totalmente el crecimiento miceliar de todos los aislados a la dosis más alta (1000 ppm) (Tabla 27). *R. solani* fue el aislado más resistente al tratamiento con este aceite esencial, al no presentar inhibición en el resto de concentraciones. Tampoco *P. citrophthora*, *Py. litorale* y *C. gloeosporioides* mostraron inhibición en las dos concentraciones menores, mientras que la concentración de 100 ppm inhibieron en un 88.0, 72.1 y 29.6% el crecimiento miceliar, respectivamente. *Pa. chlamydospora* tuvo una inhibición total también en la segunda concentración (100 ppm), mientras que en las dos concentraciones menores apenas tuvo efecto el tratamiento. En general los hongos manifestaron una relación dosis-dependiente en la reducción del crecimiento miceliar.

El crecimiento micelial en placa Petri de algunos de los hongos para el aceite esencial de *S. montana* y en las diferentes concentraciones se muestran en la Figura 52.

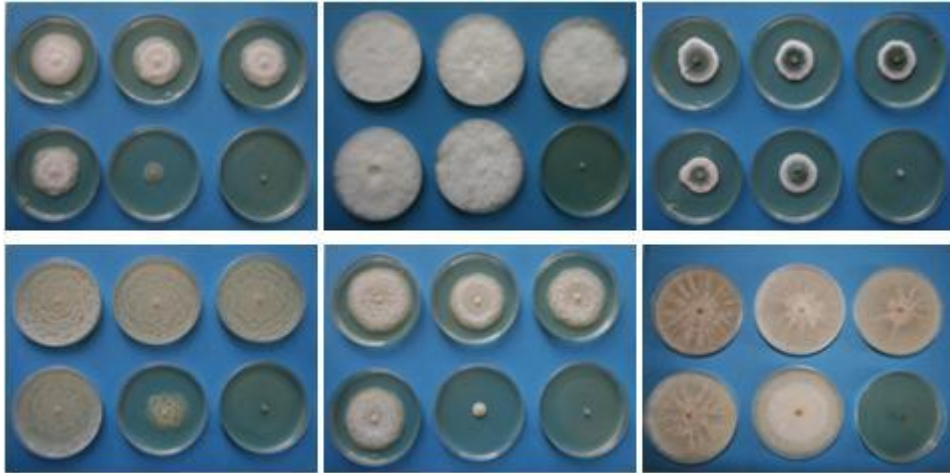


Figura 52. Reducción del crecimiento micelial de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de *S. montana*

De izquierda a derecha y de arriba abajo: *P. palmivora*, *C. gloeosporioides*, *Pe. hirsutum*, *P. citrophthora*, *Py. litorale* y *R. solani*

En cada foto, de izquierda a derecha, y de arriba abajo, concentraciones de aceite esencial de 0, 0 + etanol, 1, 10, 100 y 1000 ppm.

4.4.3.2. *S. cuneifolia* Ten.

Los resultados sobre el potencial fungicida del aceite esencial de *S. cuneifolia* frente a los hongos ensayados se indican en la tabla 28.

Nuevamente *R. solani* fue el aislado más resistente al aceite esencial, sin mostrar ninguna inhibición en las dosis ensayadas, seguido de *Py. litorale* y *Cy. liriodendri*, que inhibieron un 11.0 y un 12.7% el crecimiento micelial respectivamente a la mayor dosis de aceite esencial, sin presentar inhibición en el resto de concentraciones. *P. citrophthora* y *P. palmivora* fueron los hongos más sensibles al tratamiento con el aceite esencial a la mayor dosis, llegando a inhibir un 63.1 y un 77.1%, respectivamente, a pesar de no manifestar inhibición a las dos dosis menores. El efecto de algunos de los aislados al aplicarles las distintas dosis del aceite esencial de *S. cuneifolia* se muestra en la Figura 53.

Tabla 28. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de *S. cuneifolia* respecto al control con etanol

Oomiceto/Hongo	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
	Inhib. (%)			
<i>P. citrophthora</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	1,21 ± 0,63 b	63,07 ± 4,61 c
<i>P. palmivora</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	4,64 ± 1,05 b	77,13 ± 0,45 c
<i>Py. litorale</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	10,99 ± 3,20 b
<i>C. gloeosporioides</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	2,50 ± 1,38 b	23,00 ± 0,71 c
<i>Cy. liriiodendri</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	12,73 ± 1,36 b
<i>Cy. macrodidymum</i>	5,58 ± 0,70 a	4,46 ± 1,39 a	3,72 ± 1,08 a	20,82 ± 1,91 b
<i>Pe. hirsutum</i>	6,95 ± 0,65 b	9,02 ± 0,00 b	1,95 ± 1,20 a	18,61 ± 0,76 c
<i>Pa. chlamydospora</i>	0,61 ± 0,37 a	5,76 ± 3,16 ab	9,09 ± 2,40 b	53,03 ± 9,49 c
<i>Pm. aleophilum</i>	3,64 ± 1,70 a	0,91 ± 0,91 a	11,82 ± 4,22 b	64,55 ± 3,02 c
<i>R. solani</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>V. dahliae</i>	4,70 ± 1,62 a	9,64 ± 1,35 b	17,47 ± 1,20 c	30,12 ± 4,09 d

Misma letra entre valores de la misma línea indica que no hay diferencias estadísticas

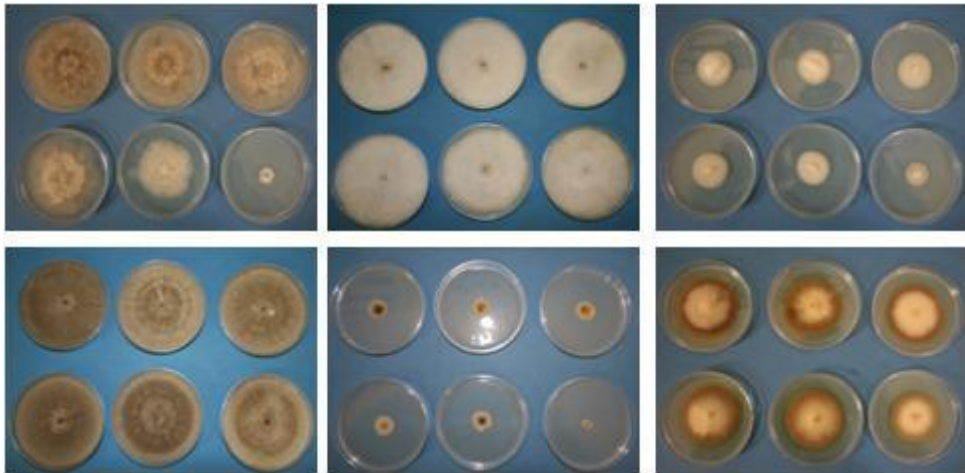


Figura 53. Reducción del crecimiento micelial de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de *S. cuneifolia*

De izquierda a derecha y de arriba abajo: *P. palmivora*, *C. gloeosporioides*, *V. dahliae*, *R. solani*, *Pa. chlamydospora* y *Cy. macrodidymum*

En cada foto, de izquierda a derecha, y de arriba abajo, concentraciones de aceite esencial de 0, 0 + etanol, 1, 10, 100 y 1000 ppm.

4.4.3.3. *S. innota* (Pau) G. López

Los resultados sobre el potencial fungicida del aceite esencial de *S. innota* frente a los hongos ensayados aparecen en las tablas 29 (plantas procedentes de Culla-INNO 1) y 30 (plantas procedentes de Sueras-INNO-2).

El aceite esencial obtenido de plantas de Culla resultó poco eficaz en la reducción del crecimiento miceliar de los hongos ensayados. Únicamente logró una reducción total del crecimiento miceliar sobre *Pa. chlamydospora* en la mayor dosis (1000 ppm). Otros dos aislados mostraron una inhibición superior al 50%, con respecto al control con etanol, en la mayor dosis: *P. palmivora* (64.2%) y *Pm. aleophilum* (58.2%). El tratamiento con el aceite esencial de esta primera población de *S. innota* no tuvo ningún efecto sobre el crecimiento miceliar de *Py. litorale* y *R. solani*. El crecimiento miceliar de algunos de los hongos ensayados a diferentes dosis del aceite esencial se indica en la Figura 54.

Tabla 29. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de *S. innota* (INNO 1) respecto al control con etanol

Oomiceto/Hongo	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
	Inhib. (%)			
<i>P. citrophthora</i>	4,57 ± 1,05 b	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	30,29± 3,65 c
<i>P. palmivora</i>	0,47 ± 0,47 a	1,24 ± 1,04 a	17,16 ± 2,34 b	64,20 ± 5,05 c
<i>Py. litorale</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>C. gloeosporioides</i>	0,00 ± 0,00 a	1,11 ± 1,11 a	1,11 ± 1,11 a	5,68 ± 0,36 b
<i>Cy. liriodendri</i>	2,06 ± 0,50 a	3,05 ± 1,08 a	1,15 ± 0,60 a	16,46 ± 1,40 b
<i>Cy. macrodidymum</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	1,50 ± 0,71 b	21,82 ± 0,73 c
<i>Pe. hirsutum</i> *	-	-	-	-
<i>Pa. chlamydospora</i>	2,67 ± 1,63 a	16,00 ± 2,67 b	32,00 ± 2,49 c	100,00 ± 0,00 d
<i>Pm. aleophilum</i>	5,45 ± 1,70 a	3,64 ± 1,70 a	2,73 ± 1,11 a	58,18 ± 2,65 b
<i>R. solani</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>V. dahliae</i>	1,24 ± 0,51 a	3,92 ± 3,43 a	13,92 ± 1,03 b	35,05 ± 1,71 c

* No se obtuvieron datos

Misma letra entre valores de la misma línea indica que no hay diferencias estadísticas

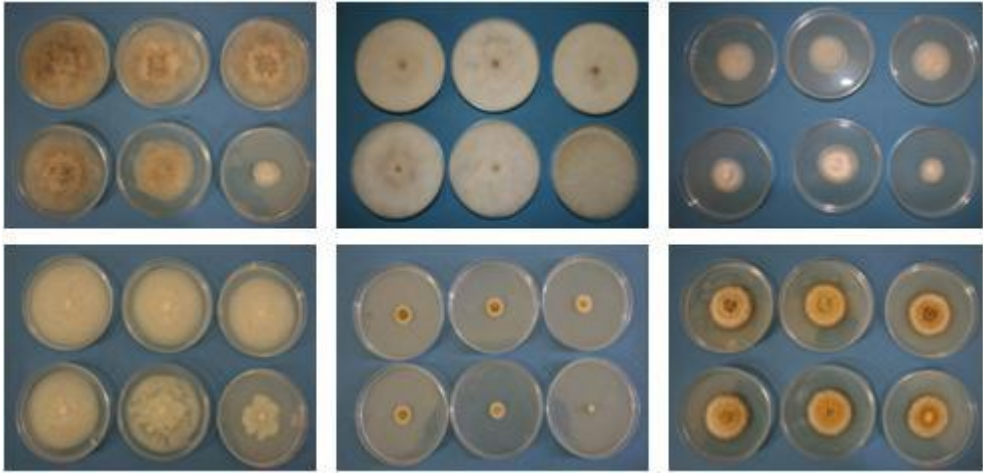


Figura 54. Reducción del crecimiento micelial de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de *S. innota* (INNO 1)

De izquierda a derecha y de arriba abajo: *P. palmivora*, *C. gloeosporioides*, *V. dahliae*, *P. citrophthora*, *Pa. chlamydospora* y *Cy. liriodendri*.

En cada foto, de izquierda a derecha, y de arriba abajo, concentraciones de aceite esencial de 0, 0 + etanol, 1, 10, 100 y 1000 ppm.

El segundo de los aceites esenciales de *S. innota* obtenido de plantas provenientes de Suera (INNO 2), presentó una actividad mayor sobre el crecimiento micelial (Tabla 30) que la mostrada por el aceite esencial de la primera población de *S. innota* (INNO 1). Dicho aceite inhibió el 100% del crecimiento a la mayor dosis de aceite esencial (1000 ppm) en cuatro patógenos (*P. citrophthora*, *P. palmivora*, *Pa. chlamydospora* y *Pm. aleophilum*). Además, otros cuatro aislados vieron reducido su crecimiento micelial por encima del 50% a esta dosis: *Py. litorale* (97.5%), *Cy. liriodendri* (77.9%), *Cy. macrodidymum* (87.3%), *Pe. hirsutum* (54.6%) y *V. dahliae* (72.8%). Nuevamente *R. solani* no presentó inhibición en ninguna de las dosis de aceite esencial empleadas. Se puede observar en la Figura 55 el efecto mostrado por seis de los once hongos ensayados a las diferentes dosis de aceite esencial de INNO 2 empleadas.

Tabla 30. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de *S. innota* (INNO 2) respecto al control con etanol

Oomiceto/Hongo	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
	Inhib. (%)			
<i>P. citrophthora</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
<i>P. palmivora</i>	2,80 ± 1,01 a	18,18 ± 1,13 b	38,46 ± 1,48 c	100,00 ± 0,00 d
<i>Py. litorale</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	97,53 ± 0,00 b
<i>C. gloeosporioides</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	26,79 ± 5,01 b
<i>Cy. liriodendri</i>	0,60 ± 0,25 a	0,40 ± 0,25 a	9,40 ± 0,00 b	77,85 ± 5,16 c
<i>Cy. macrodidymum</i>	4,91 ± 0,54 a	5,20 ± 0,98 a	13,29 ± 0,91 b	87,28 ± 1,96 c
<i>Pe. hirsutum</i>	7,64 ± 3,64 a	13,09 ± 3,87 a	25,21 ± 3,63 b	54,55 ± 0,96 c
<i>Pa. chlamydospora</i>	3,53 ± 0,88 a	11,76 ± 0,00 b	30,88 ± 1,80 c	100,00 ± 0,00 d
<i>Pm. aleophilum</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	17,48 ± 1,54 b	100,00 ± 0,00 c
<i>R. solani</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>V. dahliae</i>	0,15 ± 0,15 a	0,00 ± 0,00 a	8,53 ± 3,91 b	72,79 ± 1,87 c

Misma letra entre valores de la misma línea indica que no hay diferencias estadísticas

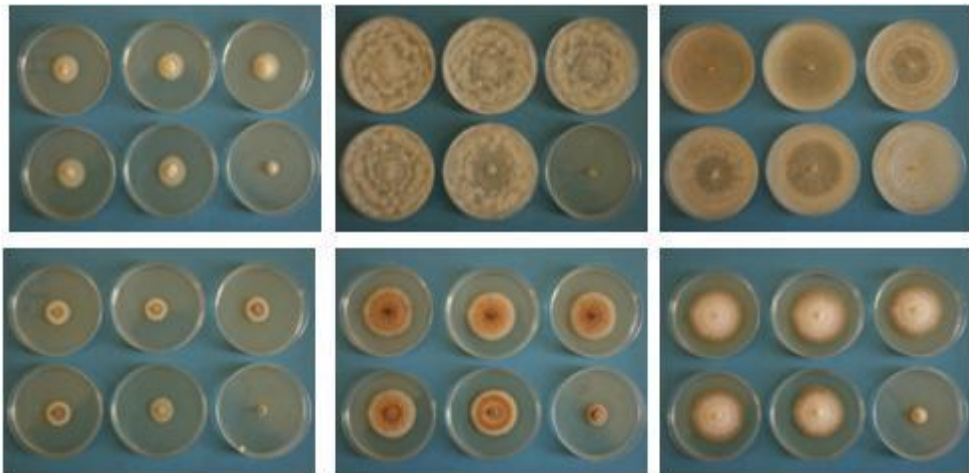


Figura 55. Reducción del crecimiento micelial de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de *S. innota* (INNO 2)

De izquierda a derecha y de arriba abajo: *V. dahliae*, *Py. litorale*, *R. solani*, *Pa. aleophilum*, *Cy. liriodendri* y *Cy. macrodidymum*

En cada foto, de izquierda a derecha, y de arriba abajo, concentraciones de aceite esencial de 0, 0 + etanol, 1, 10, 100 y 1000 ppm.

4.4.3.4. *S. intricata* Lange

Con las lecturas del crecimiento miceliar de los hongos tratados con el aceite esencial de *S. intricata* y la determinación del porcentaje de inhibición de cada dosis del aceite esencial sobre cada uno de los hongos se ha elaborado la Tabla 31. En ella se observa que el aceite esencial de *S. intricata* no muestra una gran eficacia sobre el crecimiento miceliar. Dos de los hongos (*Py. litorale* y *R. solani*) no vieron reducido su crecimiento miceliar en ninguna de las concentraciones ensayadas. Los hongos más sensibles al tratamiento con dicho aceite esencial fueron *P. citrophthora* (con un 86.8% de inhibición en la mayor dosis) y *P. palmivora* (81.7%). El crecimiento miceliar de algunos de los hongos ensayados a las diferentes dosis de aceite esencial de *S. intricata* se muestra en la Figura 56.

Tabla 31. Porcentaje de inhibición de los diferentes hongos a distintas dosis de aceite esencial de *S. intricata* respecto al control con etanol

Oomiceto/Hongo	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
	Inhib. (%)			
<i>P. citrophthora</i>	0,88 ± 0,70 a	2,75 ± 1,16 a	0,73 ± 0,73 a	86,83 ± 0,93 b
<i>P. palmivora</i>	1,46 ± 1,17 a	6,75 ± 1,80 b	21,34 ± 1,48 c	81,66 ± 0,80 d
<i>Py. litorale</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>C. gloeosporioides</i>	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	2,72 ± 1,76 b
<i>Cy. liriodendri</i>	1,45 ± 0,71 ab	0,00 ± 0,00 a	3,08 ± 0,77 b	36,75 ± 2,75 c
<i>Cy. macrodidymum</i>	1,55 ± 1,05 a	1,17 ± 0,73 a	2,73 ± 0,68 b	40,72 ± 1,68 c
<i>Pe. hirsutum</i>	1,22 ± 0,50 a	1,22 ± 1,22 a	3,18 ± 1,07 a	26,53 ± 1,94 b
<i>Pa. chlamydospora</i>	1,18 ± 1,18 a	3,53 ± 1,44 a	3,53 ± 2,35 a	61,18 ± 4,78 b
<i>Pm. aleophilum</i>	5,84 ± 2,05 b	1,04 ± 0,64 a	8,57 ± 3,06 b	40,26 ± 2,20 c
<i>R. solani</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>V. dahliae</i>	0,23 ± 0,14 a	0,00 ± 0,00 a	11,36 ± 1,06 b	51,14 ± 3,03 c

Misma letra entre valores de la misma línea indica que no hay diferencias estadísticas

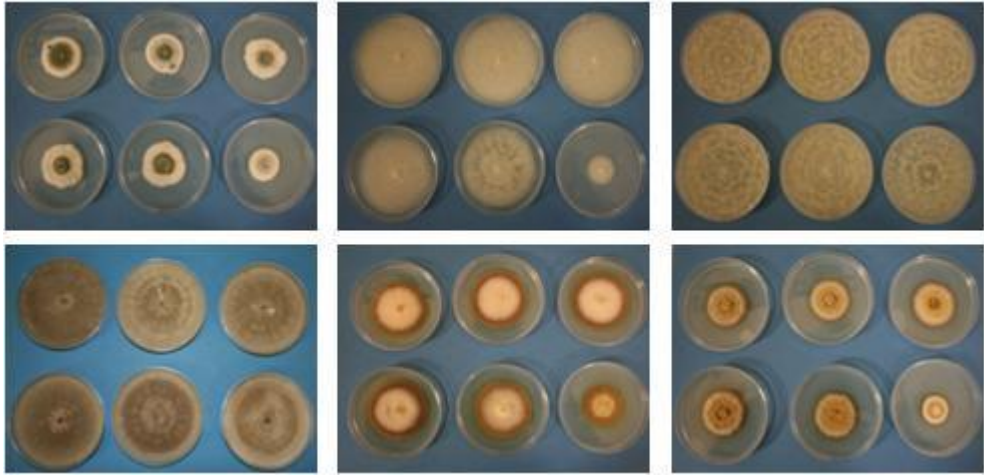


Figura 56. Reducción del crecimiento micelial de diferentes hongos a distintas concentraciones de aceite esencial de *S. intricata*

De izquierda a derecha y de arriba abajo: *Pe. hirsutum*, *P. citrophthora*, *Py. litorale*, *R. solani*, *Cy. liriodendri* y *Cy. macrodidymum*

En cada foto, de izquierda a derecha, y de arriba abajo, concentraciones de aceite esencial de 0, 0 + etanol, 1, 10, 100 y 1000 ppm.

4.4.3.5. Determinación de la DE₅₀

Con la transformación probit y la correspondiente regresión lineal de los valores obtenidos en los anteriores puntos, y con la fórmula descrita en el punto 3.5.3.5. se ha elaborado la Tabla 32. En ella se muestran los valores de DE₅₀ (valor de la concentración a la cual el crecimiento micelial se reduce un 50% respecto al control, en $\mu\text{L/L}$) para cada aceite y oomiceto/hongo.

El análisis de la varianza ANOVA muestra diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los aceites esenciales en todos los hongos. En la Tabla 32 se puede observar que el aceite más eficaz en la reducción de crecimiento micelial fue el de *S. montana*, con valores de DE₅₀ por debajo de 250 ppm en todos los casos. El segundo aceite en efectividad fue el extraído de *S. innota* de Sueras (INNO 2), que mostró valores de DE₅₀ por debajo de 1000 ppm en seis de los once aislados estudiados. El aceite esencial de *S. cuneifolia* fue el menos efectivo, con valores de DE₅₀ inferiores a 1000 ppm únicamente en *P. palmivora*.

Tabla 32. Valores de la DE₅₀ µL/L (ppm) de crecimiento miceliar de cada aceite esencial para los diferentes aislados

Aceite	<i>S. montana</i>	<i>S. cuneifolia</i>	<i>S. innota 1</i>	<i>S. innota 2</i>	<i>S. intricata</i>
Oomiceto/Hongo	DE₅₀				
<i>P. citrophthora</i>	58,07* a	>1000 c	>1000 c	215,44 a	799,48 b
<i>P. palmivora</i>	21,97 a	673,58 c	673,17 c	19,04 a	246,38 b
<i>Py. litorale</i>	64,53 a	>1000 b	>1000 b	>1000 b	>1000 b
<i>C. gloeosporioides</i>	79,63 a	>1000 b	>1000 b	>1000 b	>1000 b
<i>Cy. liriodendri</i>	31,16 a	>1000 c	>1000 c	607,66 b	>1000 c
<i>Cy. macrodidymum</i>	21,33 a	>1000 c	>1000 c	254,71 b	>1000 c
<i>Pe. hirsutum</i>	28,14 a	>1000 b	>1000 b	>1000 b	>1000 b
<i>Pa. chlamydospora</i>	6,32 a	>1000 b	20,33 a	21,08 a	>1000 b
<i>Pm. aleophilum</i>	20,28 a	>1000 c	>1000 c	86,3 b	>1000 c
<i>R. solani</i>	215,44 a	>1000 b	>1000 b	>1000 b	>1000 b
<i>V. dahliae</i>	21,25 a	>1000 b	>1000 b	>1000 b	>1000 b

*Valor de la media de la DE₅₀ obtenido a partir de cuatro valores diferentes de regresión lineal

Misma letra indica que no hay diferencias estadísticas entre valores de la misma fila

En cuanto a los aislados, *P. palmivora* fue el aislado más sensible de todos los ensayados, con una DE₅₀ por debajo de 700 ppm en todos los aceites estudiados (Tabla 32). *P. citrophthora* y *Pa. chlamydospora* también mostraron sensibilidad al tratamiento con aceite esencial, con DE₅₀ por debajo de 1000 ppm en todos los aceites aplicados a excepción del de *S. cuneifolia* y *S. innota* (INNO 1-Culla) en el caso de *P. citrophthora* y el de *S. cuneifolia* y *S. intricata* en *Pa. chlamydospora*. Por otro lado, los hongos *C. gloeosporioides*, *Py. litorale*, *R. solani* y *V. dahliae* únicamente presentaron un valor inferior a 1000 ppm de DE₅₀ cuando se trataron con aceite esencial de *S. montana*. Algunos ejemplos de las regresiones lineales de los aceites esenciales se muestran en la Figura 57.

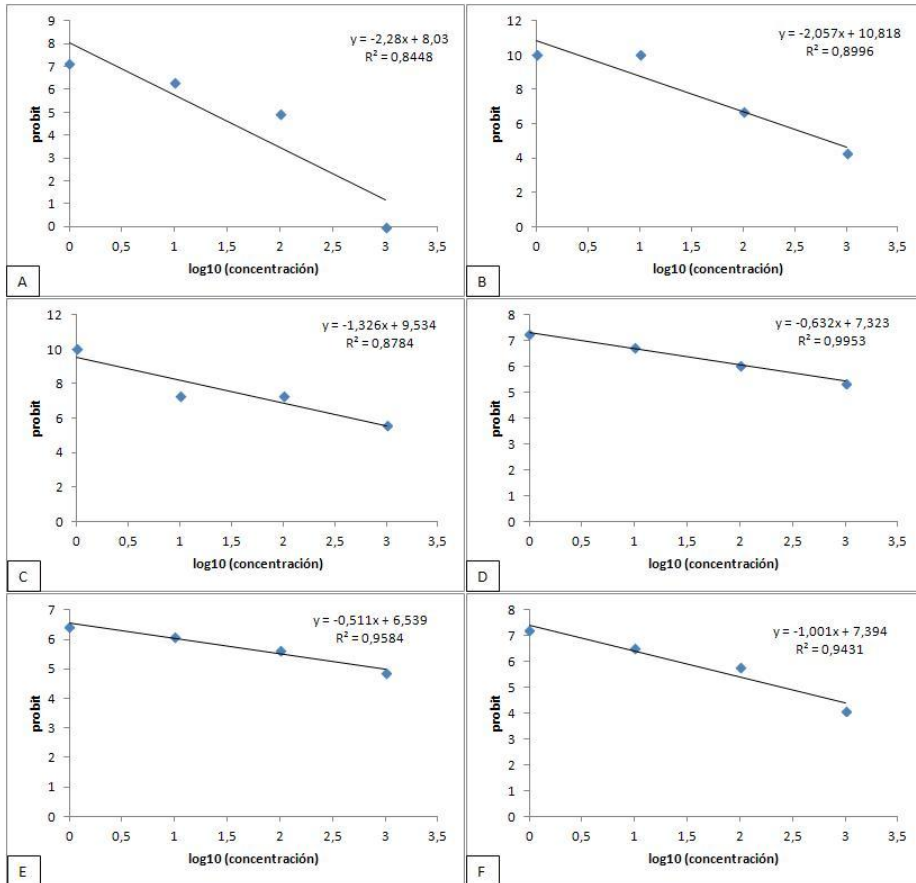


Figura 57: Rectas de regresión lineal para algunos de los aceites esenciales. A. *S. montana* sobre *Cy. macrodidymum*; B. *S. cuneifolia* sobre *P. citrophthora*; C. *S. innota* (Culla) sobre *C. gloeosporioides*; D. *S. innota* (Culla) sobre *V. dahliae*; E. *S. innota* (Sueras) sobre *Pe. hirsutum*; F. *S. intricata* sobre *Pm. aleophilum*.

4.4.4. Capacidad antioxidante y determinación de los compuestos fenólicos totales

4.4.4.1. Capacidad antioxidante

Los resultados obtenidos sobre la capacidad antioxidante presentan valores muy diferentes (Tabla 33).

Tabla 33. Capacidad antioxidante (FRAP) de los aceites esenciales de *Satureja L.*

Aceite	FRAP ($\mu\text{mol Trolox/mL}$)
<i>S. montana</i>	726.16 \pm 4.93 a
<i>S. intricata</i>	222.89 \pm 2.56 b
<i>S. innota</i> (Sueras)	91.55 \pm 1.48 c
<i>S. innota</i> (Culla)	85.45 \pm 4.15 c
<i>S. cuneifolia</i>	66.52 \pm 0.68 d

Medias \pm Error Standard de tres repeticiones

Misma letra indica que no hay diferencias estadísticas entre valores de la misma columna

El análisis de la varianza ANOVA muestra diferencias significativas entre los aceites esenciales ($P < 0,05$) a excepción de los provenientes de la especie *S. innota* en las dos poblaciones estudiadas (Culla: INNO 1; y Sueras: INNO 2). El aceite esencial que presentó una mayor capacidad antioxidante fue el obtenido de *S. montana*, seguido de *S. intricata*. A continuación se encuentran las dos poblaciones de *S. innota* (sin diferencias entre ellas), y por último lugar el aceite esencial de *S. cuneifolia* tuvo la menor capacidad antioxidante.

4.4.4.2. Compuestos fenólicos totales

El contenido de fenoles totales (Tabla 34) presentó, al igual que en la capacidad antioxidante, en el aceite esencial de *S. montana* el mayor rendimiento, seguido de *S. intricata*, las dos poblaciones de *S. innota* y *S. cuneifolia*.

El contenido de compuestos fenólicos muestra diferencias significativas entre la especie *S. montana* (casi diez veces mayor que las demás), *S. intricata* y las otras dos especies estudiadas (dos poblaciones de *S. innota*, INNO 1 y 2, y la población de *S. cuneifolia*).

Tabla 34. Compuestos fenólicos totales de los aceites esenciales de *Satureja L.*

Aceite	Compuestos fenólicos totales (GAE/mL)
<i>S. montana</i>	238.26 ± 3.28 a
<i>S. intricata</i>	24.37 ± 0.05 b
<i>S. innota</i> (Sueras)	17.93 ± 0.63 c
<i>S. innota</i> (Culla)	15.19 ± 1.02 c
<i>S. cuneifolia</i>	14.2 ± 0.2 c

Medias ± Error Standard de tres repeticiones

Misma letra indica que no hay diferencias estadísticas entre valores de la misma columna

5. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo sobre la sistemática del género *Satureja* en la Península Ibérica coinciden con la clasificación taxonómica descrita por la Flora Ibérica (Flora Iberica, 2010) y Bolós (Bolós *et al.*, 2005), que reconocen los cuatro taxones estudiados en este trabajo.

La morfología de la hoja, tanto longitud como anchura, se ha revelado como el factor más determinante en la sistemática de estos taxones dentro del género *Satureja*. Estos resultados concuerdan con la Flora Ibérica en la que una primera aproximación dentro del grupo de las ajedreas perennes viene marcada por la forma del órgano foliar, distinguiendo entre *S. montana* (hojas lanceoladas), *S. innota* (hojas alesnadas), y *S. cuneifolia* y *S. intricata* (hojas obovadas). La longitud del cáliz así como la presencia y dimensión de los pelos de las hojas, sirven tanto de carácter diferenciador entre estas dos últimas especies como de corroboración de las anteriores.

Bolós *et al.* (2005) consideran estos taxones como subespecies de *S. montana* (ssp. *montana*, ssp. *innota*, ssp. *obovata* y ssp. *cuneifolia*), mientras que la Flora ibérica eleva esta clasificación a especies (*S. montana*, *S. innota*, *S. intricata* y *S. cuneifolia*). Es difícil determinar dónde acaba el término especie y empieza la subespecie, y viceversa. El problema surge cuando estudiando determinados seres vivos encontramos organismos con ligeras diferencias entre ellos. Particularidades que se mantienen constantes en una zona geográfica, pero no en otra. Esto lleva a serios problemas por parte de los taxónomos para decidir si las diferencias observadas obedecen a seres vivos realmente distintos o son meras fluctuaciones del mismo organismo (De Haro, 1999). A veces las diferencias se consideran poco importantes y se designan como subespecie; quizás otro investigador estudiando el mismo organismo, considera las diferencias importantes y se describe una especie nueva. Las especies son concebidas como grupos de organismos que evolucionan conjuntamente, capaces de mantener su propia identidad diferenciada de la de otros grupos (Wiley, 1978). Una subespecie es meramente una hipótesis sobre cladogénesis. Es una inferencia relativa a un futuro proceso de especiación que ha comenzado (De Haro, 1999). En este sentido, a tenor de los resultados obtenidos, podemos decir que el taxón *S. montana* se diferencia claramente a nivel morfológico de los demás taxones, mientras que entre ellos no hay una diferenciación clara. Es evidente que existen diferencias entre diversos caracteres, aunque sin una gran distancia morfológica. Sería necesario un estudio más pormenorizado de estos tres taxones para determinar su categoría taxonómica.

El rendimiento en aceite esencial mostró variabilidad a lo largo del período de estudio. Los mayores resultados se obtuvieron en general durante el periodo de floración. Esto puede ser debido a que la planta incrementa la cantidad de aceite esencial en esta época para favorecer la polinización o para utilizar sus propiedades biológicas. De hecho, muchos compuestos han sido citados como vectores para la polinización (Harborne, 1985). Después de la floración, la cantidad de aceite esencial vuelve a disminuir. Este descenso puede ser debido al hecho de que después de la floración, comienza la etapa de senescencia y los fenoles puede que hayan empezado a descomponerse para prevenir el daño por estrés actuando como antioxidantes naturales (Russo *et al.*, 1998). Esta variación del rendimiento del aceite esencial coincide con los resultados de otros autores en diferentes especies vegetales: *Thymus pulegioides* L. (Senatore, 1996); *Thymbra spicata* L. y *Satureja thymbra* L. (Muller-Riebau *et al.*, 1997), *S. montana* y *S. cuneifolia* Ten. (Milos *et al.*, 2001); *Santolina rosmarinifolia* L. (Palá-Paúl *et al.*, 2001); *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Jerković *et al.*, 2001); *Cistus monspeliensis* L. (Angelopoulou *et al.*, 2002); *Satureja thymbra* L. y *S. parnassica* Heldr. & Sart ex Boiss (Chorianopoulos *et al.*, 2006).

El análisis del aceite esencial de las distintas especies dentro de un mismo género es una herramienta complementaria al sistema taxonómico allí donde existen discrepancias según distintos autores. Los resultados conseguidos en la composición del aceite esencial de los diferentes taxones ensayados en este estudio apoyan la clasificación sistemática anteriormente citada.

Las poblaciones recogidas tanto en San Juan de Peñagolosa como en el barranco de Culla, y determinadas como *S. montana* L., contienen un aceite rico en carvacrol, componente no significativo en el resto de localidades. Ambas poblaciones presentan un análisis edáfico bastante similar. El carvacrol constituye el componente mayoritario de esta esencia, llegando a alcanzar el 67.95% del aceite esencial. En la primera localidad de *S. montana* (MONT 1), situada en Culla, la proporción de este compuesto se mantiene estable durante los meses de junio (61.38%), septiembre (67.95%) y diciembre (61.59%). Sin embargo, en el mes de marzo este compuesto baja sensiblemente su proporción hasta representar el 43.82% del aceite esencial en esta fecha. Asimismo, el contenido de γ -terpineno varía a lo largo de los cuatro muestreos (16.06% en junio, 7.83% en septiembre, 1.59% en diciembre y 1.85% en marzo). De la misma manera, en la segunda localidad de *S. montana* (San Juan de Peñagolosa), el carvacrol se mantiene estable en los

meses de junio (58.35%) y septiembre (58.34%), bajando bruscamente en los meses de diciembre (21.37%) y marzo (21.96%). Al igual que ocurría con la localidad de Culla, cuando disminuyó el contenido de este componente, se incrementó el de *p*-cimeno llegando a ser el mayoritario del aceite esencial tanto en diciembre (39.27%) como en marzo (35.97%). Lo mismo ocurre con el γ -terpineno, que nuevamente llegó a alcanzar un máximo en junio (18.74%), disminuyendo progresivamente en el resto de muestreos (5.35, 2.99 y 1.66%).

Se observa resultados similares con estudios realizados sobre variación estacional del aceite esencial de esta especie en diferentes países (Milos *et al.*, 2001; Skočibušić y Bezić, 2004b). En todos ellos hay mayor cantidad del componente carvacrol en los meses de verano (en floración y prefloración), disminuyendo la proporción del mismo a medida que nos adentramos en invierno, donde se incrementa la proporción de *p*-cimeno. Lo mismo ocurre con otras especies de la Familia Lamiaceae, como *O. vulgare* (Kokkini *et al.*, 1994; Jerković *et al.*, 2001), *T. spicata* y *S. thymbra* (Müller-Riebau *et al.*, 1997) *Thymus vulgaris* L. (Mastelic, 1995). En todas ellas se realiza un estudio de la variación estacional de los aceites esenciales y se observa una relación entre carvacrol, timol, *p*-cimeno y γ -terpineno, de manera que cuando sube la proporción de alguno de ellos baja la de otro, y viceversa, quedando la suma de todos ellos estable a lo largo del año. Esto confirma una conexión entre las rutas biosintéticas de estos componentes (Sáez, F., 1995; Croteau, 1987; Özgüven y Tansi, 1996).

Al analizar los resultados según las distintas fracciones terpénicas, se observa que, así como ocurría con los compuestos individuales anteriormente citados, la localidad de San Juan de Peñagolosa, con unas condiciones climáticas más exigentes, presenta una mayor variabilidad. Si en la primera localidad (Culla), se percibe que los monoterpenos oxigenados son con diferencia la fracción más importante del aceite en todos los muestreos realizados, en la localidad de San Juan de Peñagolosa la fracción monoterpénica oxigenada llega a equipararse con la hidrocarbonada en marzo, pasando a ser la mayoritaria en el mes de diciembre (todo ello marcado principalmente por los compuestos anteriormente expuestos).

Si atendemos al factor climático temperatura (recogido por las microestaciones dispuestas en dichas localidades), se observa que en Culla desciende de una manera significativa en enero (un mes después de la tercera fecha de recolección) y vuelve a subir en marzo. En la localidad de San

Juan de Peñagolosa, por su lado, este descenso comienza en diciembre, coincidiendo con la recolección del tercer muestreo. Considerando la producción de aceite esencial como una respuesta de la planta frente a diferentes factores, podríamos establecer la hipótesis de que la variación temporal de la composición de los aceites esenciales está relacionada con los factores bioclimáticos, principalmente la temperatura.

Con todas estas premisas, los resultados obtenidos en la composición del aceite esencial de *S. montana* L. coinciden con estudios previos realizados sobre la composición de dicha especie en diferentes países de la cuenca mediterránea. Así, distintos autores obtuvieron el compuesto carvacrol como el mayoritario del aceite esencial de *S. montana* (Angelini *et al.*, 2003; Skočibušić y Bezić, 2004a; Bezić *et al.*, 2005 y 2009; Fraternali *et al.*, 2007; Michaelakis *et al.*, 2007; Stoilova *et al.*, 2008; Grosso *et al.*, 2009 y 2010; Ibraliu *et al.*, 2011a y b; Serrano *et al.*, 2011), recolectadas todas ellas en la época de floración. Otros autores también obtuvieron una composición semejante en muestras comerciales (Giordani *et al.*, 2004; Tampieri *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2009; Djenane *et al.*, 2011). Igualmente Velasco-Negueruela y Pérez-Alonso (1983) y Cavar *et al.* (2008), en una de las muestras que analizaron, también alcanzaron los mismos resultados en muestras en las que no se indica la fecha de recolección. Otros autores obtuvieron el compuesto timol (isómero del carvacrol) como componente mayoritario en el aceite esencial (Mastelić and Jerković, 2003; Bezbradica *et al.*, 2005; Oussalah *et al.*, 2007; Cavar *et al.*, 2008; Coutinho de Oliveira *et al.*, 2012). Por otra parte, el precursor *p*-cimeno fue el compuesto mayoritario en una muestra comercial (Lopez-Reyes *et al.*, 2010) y en una población recolectada en enero (Prieto *et al.*, 2007), confirmando así nuestros resultados. Mayor diversidad obtuvieron Slavkovska *et al.* (2001) en dos poblaciones recogidas en el comienzo del periodo de floración de *S. montana* en la que una fue el *p*-cimeno el componente mayoritario mientras que en la otra fue el linalol.

La especie *S. cuneifolia*, recolectada en la localidad de Cullera (CUNE), mostró un aceite esencial en el que el compuesto mayoritario fue el alcanfor, seguido del canfeno. Ambos compuestos tuvieron una gran uniformidad a lo largo del año en cuanto a su proporción relativa en el total del aceite analizado. En el caso de alcanfor obtuvo un máximo en junio, suponiendo un 45.04%, y un mínimo en diciembre (35.97%), mientras que el canfeno varió entre el 12.42% analizado en el mes de junio y el 10.11% en septiembre. El alcanfor presenta una ruta biosintética diferente a la del carvacrol, y es un producto de oxidación del borneol (Croteau, 1987). A nivel

de fracciones terpénicas se registró también una elevada uniformidad a lo largo del periodo de estudio. De todas las localidades estudiadas, Cullera es la que está localizada en la estación con menores exigencias climáticas, con una temperatura media con poca variación a lo largo del año. Todo ello corrobora la teoría de que la variabilidad del aceite esencial a lo largo del año está relacionada positivamente con el factor climático temperatura.

La composición del aceite esencial de *S. cuneifolia* ha sido ampliamente estudiada en diversos países de la cuenca mediterránea. Es importante reseñar que la composición del aceite esencial de esta especie cambia notablemente en función del país de origen. Así, todos los estudios llevados a cabo en Turquía (Tümen 1991; Tümen *et al.*, 1998; Biavati *et al.* 2004; Azaz *et al.* 2005; Kan *et al.*, 2006; Altun *et al.*, 2007; Eminagaoglu *et al.* 2007; Kosar *et al.* 2008; Oke *et al.* 2009) exponen una composición química semejante a la especie *S. montana*, con carvacrol o su isómero timol (Altun *et al.*, 2007; Kosar *et al.* 2008) como componente mayoritario, seguido de sus precursores biogénicos *p*-cimeno o γ -terpineno. También Bezić *et al.* 2009, obtuvieron carvacrol como componente mayoritario, seguido de sus precursores, en unas muestras recogidas en agosto en Croacia. Sin embargo, Skočibušić *et al.*, (2004) obtuvieron linalol como compuesto mayoritario antes, durante y después de la floración, mientras que el resto de estudios del aceite esencial de dicha especie llevados a cabo en este país (Milos *et al.* 2001; Skočibušić y Bezić, 2004a; Bezić *et al.* 2005), obtuvieron una esencia rica en los compuestos α -pineno, limoneno y β -cubebeno. Es importante reseñar que en ninguno de los análisis llevados a cabo en estos dos países el compuesto alcanfor (mayoritario en la esencia obtenida en el presente trabajo) tuvo importancia en el total del aceite esencial, no llegándose incluso a identificar en muchos de ellos. El componente linalol (19.9%) fue el mayoritario en los estudios llevados a cabo en Serbia (Menković *et al.*, 2007; Šavikin *et al.*, 2010), seguido del α -pineno (12.3%). El único estudio llevado a cabo en Italia (Tommasi *et al.* 2008) se llevó a cabo sobre un total de 36 muestras. En 4 de ellas se obtuvo α -pineno como compuesto mayoritario, en otras 4 linalol y en el resto de muestras (28) borneol. Cabe destacar en todas estas muestras la importancia del componente alcanfor, que fue el segundo compuesto en importancia en 15 de las muestras analizadas. Son dos las investigaciones realizadas en España sobre el aceite esencial de esta especie. En primer trabajo (Velasco-Negueruela y Pérez-Alonso, 1983) se obtuvo el alcanfor como compuesto mayoritario, suponiendo un 35.12% del aceite esencial. Este resultado concuerda con los obtenidos en el presente estudio. En el segundo trabajo (Jordán *et al.*, 2010), el alcanfor fue el

segundo compuesto en importancia (20.1%), precedido del α -terpineol (23.5%).

Se encontraron diferencias importantes en la composición del aceite esencial de *S. innota* en función de la localidad de origen. La esencia de *S. innota* de Culla (INNO 1) tuvo una gran cantidad de linalol en el mes de junio (42.60%), disminuyendo su proporción gradualmente hasta llegar a suponer alrededor de un 7% en diciembre y marzo. Al igual que ocurría en la especie *S. montana* con los compuestos carvacrol y *p*-cimeno, el mirceno es un precursor biogénico del linalol y siguen una ruta biosintética diferente a los anteriores componentes. Nuevamente, existe relación entre las proporciones de estos dos compuestos. Esta localidad presenta las mismas características climáticas que la primera localidad de *S. montana* (MONT 1). Tal y como se ha explicado en dicha localidad, las condiciones meteorológicas adversas (principalmente temperatura) comienzan en diciembre, que es cuando se produce el descenso del compuesto linalol y aumento del mirceno. Lo mismo ocurre con el compuesto alcanfor, el cual incrementa su proporción a medida que disminuye el linalol, convirtiéndose en el muestreo de marzo en el componente mayoritario. Si analizamos las fracciones terpénicas en esta localidad, en junio y septiembre los compuestos monoterpenos oxigenados son los mayoritarios, descendiendo su proporción en el resto de muestreos. Esto vuelve a corroborar la hipótesis de que la variabilidad temporal del aceite esencial está relacionada con el factor climático.

Además, es conocido que las plantas atraen polinizadores produciendo y emitiendo compuestos volátiles. El compuesto linalol se ha descrito como atrayente de insectos polinizadores (Pichersky *et al.*, 1994). Esto podría introducir la hipótesis de que la especie *S. innota* elabora este compuesto para atraer insectos polinizadores. Los meses en los que se registraron gran cantidad de linalol en este estudio (junio, principalmente, y septiembre) coinciden con la época de floración de dicha especie, por lo que la síntesis de dicho compuesto podría estar relacionada con ello.

Por otro lado, las muestras recogidas en la segunda localidad de *S. innota* (INNO 2) elaboraron un aceite esencial en el que el geraniol fue el componente mayoritario en tres de los muestreos realizados (junio, septiembre y diciembre). No obstante, la cantidad de dicho compuesto se mantuvo bastante estable a lo largo del periodo de estudio. Estas muestras pertenecientes a la localidad de Sueras se desarrollan en unas condiciones bioclimáticas bastantes más suaves que la otra localidad de *S. innota* (Culla). Los resultados de los análisis edáficos revelan una gran similitud entre ambas

localidades. Además, destaca la basicidad de las muestras analizadas en la localidad de Sueras (Sierra de Espadán). La Sierra de Espadán está formada en su mayoría por suelos silíceos constituyendo suelos de rodeno (pH ácido). Sin embargo, las muestras de *S. innota* recogidas en esta localidad presentaban un pH básico, como el resto de muestras del género *Satureja*. Esto indica una predilección de estas plantas por los suelos ricos en cal, tal y como se señala en la bibliografía consultada (López González, 1982).

Hasta hoy varios monoterpenos y sesquiterpenos han sido descritos en el aceite esencial de *S. innota* (Velasco-Negueruela y Pérez-Alonso, 1983). En este único estudio realizado sobre esta especie, se obtuvo alcanfor (11.14%), α -pineno (8.26%) y canfeno (7.94%) como compuestos mayoritarios. El compuesto linalol sólo representó un 1.68% mientras que el geraniol no fue identificado. En la primera de las localidades donde se recolectó *S. innota* (INNO 1-Culla), la cantidad de alcanfor fue importante, pero únicamente llegó a ser el mayoritario en las muestras analizadas en marzo. Los compuestos α -pineno y canfeno no fueron relevantes en esta localidad en ninguno de los muestreos realizados. Tampoco lo fueron en la segunda localidad (INNO 2-Sueras), donde el componente alcanfor también tuvo una importancia relativamente pequeña en el aceite esencial.

Dado que las características ecológicas son bastante uniformes en ambas localidades, las diferencias en la composición química de la especie *S. innota* podrían indicar la existencia de diferentes quimiotipos en esta especie, al igual que sucede con otras labiadas como *Thymus* (Blanquer *et al.*, 1998) en la Comunidad Valenciana. La existencia de diferentes quimiotipos en la especie *S. montana* y *S. cuneifolia* también ha sido constatada en otros estudios (Milos *et al.*, 2001). En el mismo, se indica la presencia de distintos componentes mayoritarios como carvacrol (5-69%), linalol (1-62%), γ -terpineno (1-31%) y *p*-cimeno (3-27%) en el caso de la especie *S. montana*, mientras que en la especie *S. cuneifolia*, β -cubebeno (2-11%), α -pineno (1-21%) o linalol (0-18%).

La composición de los aceites esenciales procedentes de las poblaciones de Chiva y Navalón recolectadas a diferente altitud y determinadas como *S. intricata* es bastante parecida. Cuantitativamente, en todas las poblaciones el alcanfor (monoterpeno oxigenado) ha sido el compuesto mayoritario, a excepción del muestreo realizado en marzo en la localidad de INTR 1 (Chiva), donde fue el segundo compuesto por detrás del *p*-cimeno. También el borneol, precursor biogenético de este compuesto, tuvo importancia en las localidades estudiadas, siendo la localidad de Navalón INTR 3

la que mayor cantidad mostró. Las dos localidades situadas a menor altura (INTR 1 en Chiva e INTR 3 en Navalón) presentaron una composición bastante uniforme de este compuesto en todo el periodo de estudio, mientras que en ambas localidades ubicadas a mayor altura (INTR 2 y 4), se observó una mayor variabilidad registrándose el mayor valor en las muestras recolectadas en marzo en ambas localidades. Si atendemos a la variabilidad de la proporción del componente alcanfor en cada localidad a lo largo del periodo de estudio, se observa que junio es la época en la que dicha proporción es menor (a excepción de INTR 1 que fue en el mes de marzo, sin diferencias significativas entre marzo y junio) y el siguiente muestreo, septiembre, donde mayor cantidad de alcanfor se determinó. Es posible que la floración no sea la causante de dicha variación en este caso. Estudios previos de variación estacional de aceites esenciales realizados sobre la especie *Salvia officinalis* L. coinciden con los resultados obtenidos, encontrando la menor cantidad de alcanfor en las muestras de primavera (Pitarevic *et al.*, 1984; Putievsky *et al.*, 1986; Perry *et al.*, 1999). Estos cambios en la cantidad de alcanfor podrían ser debidos a la mayor proporción de hojas jóvenes en primavera. Las hojas jóvenes presentan una composición diferente a las viejas, donde existe una mayor cantidad de dicho compuesto (Croteau, 1987; Langer *et al.*, 1993).

En las localidades de Chiva (INTR 1 y 2), el siguiente componente en importancia después del alcanfor es el *p*-cimeno. De hecho, es el mayoritario de la esencia en la primera localidad (INTR 1) del muestreo de marzo (25.60%). Se observó un incremento notorio de este compuesto en los meses de diciembre y marzo en ambas localidades. Este aumento también se observó en las localidades de Navalón (INTR 3 y 4), subiendo significativamente la cantidad de dicho compuesto. Si observamos el resto de compuestos de esta ruta biosintética, γ -terpineno, timol y carvacrol, se observa que cuando uno se incrementa el resto disminuye su proporción y viceversa, confirmando la conexión entre las rutas biosintéticas de estos componentes indicada en el estudio de la especie *S. montana*. También se confirma con estos resultados la hipótesis de que dicha variabilidad puede ser debida principalmente a la temperatura ya que es en los muestreos posteriores a cuando se registran las temperaturas más bajas en ambas poblaciones (diciembre-enero) cuando disminuye la cantidad de carvacrol, y se incrementa la de *p*-cimeno. En cuanto los compuestos linalol y mirceno, en las localidades de Navalón, el primero se mantiene uniforme a lo largo del período de estudio mientras que el segundo sube su proporción en junio y en menor medida en marzo. En las dos localidades de Chiva, por el contrario, es el linalol el que

incrementa su cantidad en junio, mientras que el mirceno presenta mayor variabilidad sin llegar a suponer más del 6% en ninguno de los muestreos.

Recientemente, Jordán *et al* (2010) determinaron como componentes mayoritarios del aceite esencial de *S. intricata* timol (18.0%) y sus precursores *p*-cimeno (25.7%) y γ -terpineno (11.0%), así como borneol (8.5%), mientras que Velasco-Negueruela y Pérez-Alonso (1983) obtuvieron *p*-cimeno+ α -terpineno (36.99%), linalol (9.79%), γ -terpineno (8.89%), borneol (8.03%), alcanfor (7.11%) y mirceno (5.19%) como compuestos principales. Las diferencias observadas entre los resultados obtenidos en este trabajo y estudios previos corroboran la conclusión de Jordán (2010), que expuso la existencia de distintos quimiotipos en esta especie.

Son numerosos los trabajos realizados sobre la fitotoxicidad de aceites esenciales de diferentes especies para el control de arvenses (Dudai *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2002; Angelini *et al.*, 2003; Scrivanti *et al.*, 2003; Arminante *et al.*, 2006; Salamci *et al.*, 2007; Argyropoulos *et al.*, 2008; Azirak y Karaman, 2008; Kordali *et al.*, 2009; Rosado *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2009; Verdeguer *et al.*, 2009; Grosso *et al.*, 2010; Rolim de Almeida *et al.*, 2010; Salamone *et al.*, 2010; Verdeguer *et al.*, 2011; Verdeguer, 2011; Verdeguer *et al.*, 2012).

El aceite esencial de *S. montana* es el que mayor efecto fitotóxico ha tenido sobre las arvenses estudiadas, inhibiendo la germinación totalmente en *P. oleracea* en todas las concentraciones ensayadas y reduciéndola en más de un 90% en todos los casos en *A. hybridus* y *C. canadensis*. Sobre las plántulas germinadas de *A. hybridus* redujo el crecimiento desde un 67.28% (concentración de 0.25 μ l/ml) hasta un 98.53% (0.5 μ l/ml), mientras que en la única concentración de aceite esencial en la que hubo germinación de *C. canadensis* (0.125 μ l/ml) la rebajó en un 94.84%. Este aceite esencial tuvo el carvacrol como compuesto mayoritario (39.21%), seguido del *p*-cimeno (21.57%) y γ -terpineno (14.72%). El carvacrol se ha revelado como un compuesto con una elevada actividad fitotóxica (Angelini *et al.*, 2003; Argyropoulos *et al.*, 2008). Es por ello que se realizó un ensayo paralelo con el compuesto carvacrol puro a la misma concentración que se encontraba en el aceite esencial de *S. montana* sobre las mismas arvenses, para determinar si el efecto fitotóxico se debía a dicho compuesto. La actividad del carvacrol fue incluso más potente, inhibiendo totalmente la germinación en todas las concentraciones y sobre todas las arvenses a excepción de la primera concentración (0.125 μ l/ml) sobre *A. hybridus*, por lo que podemos concluir que

la actividad herbicida del aceite esencial de *S. montana* se debe en gran medida a su elevado porcentaje de carvacrol.

Otros trabajos realizados con aceite esencial rico en carvacrol coinciden en su elevada actividad herbicida. Así, la esencia de esta misma especie, *S. montana*, recolectada en Italia y con un porcentaje de carvacrol del 56.80%, inhibió completamente la germinación de todas las arvenses (*P. oleracea*, *Chenopodium album* L. y *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.) y cultivos (*Raphanus sativus* L., *Capsicum annuum* L. y *Lactuca sativa* L.) que se ensayaron (Angelini *et al.*, 2003). En este estudio también se ensayó el carvacrol, aplicado a la mitad de la concentración del aceite esencial frente a las mismas plantas, inhibiendo completamente la germinación de todas, excepto la de *R. sativus*. También el aceite esencial de *Origanum onites* L. y *O. vulgare* con 72 y 66% de carvacrol, respectivamente, tuvo una gran actividad herbicida, al inhibir completamente la germinación de todas las arvenses (*Amaranthus retroflexus* L., *P. oleracea*, *E. crus-galli* y *Setaria verticillata* (L.) P. Beauv.) y de 2 de los 3 cultivos (*Oryza sativa* L. y *Solanum lycopersicum* L. mientras que no inhibió totalmente la de *Gossypium hirsutum* L.) ensayados (Argyropoulos *et al.*, 2008). De nuevo se aplicó el carvacrol puro frente a las mismas arvenses produciendo los mismos resultados. Grosso *et al.* (2010) ensayaron el aceite esencial de *Coriandrum sativum* L., *S. montana* (con un 52.2% de carvacrol), *Santolina chamaecyparissus* L. y *Thymus vulgaris* L. comparando la DE₅₀ (µL de aceite esencial por placa Petri que provoca la inhibición del 50% de las semillas) sobre cuatro cultivos (*Zea mays* L., *Triticum durum* L., *Pisum sativum* L. y *Lactuca sativa* L.) y dos arvenses (*P. oleracea* y *Vicia sativa* L.), presentando el aceite esencial de *S. montana* los menores valores de DE₅₀ (más efectivo) sobre todas las especies a excepción del trigo duro, donde fue el segundo. Por último, el aceite esencial de *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. and Link (77.02% de carvacrol) y *O. vulgare* (29.16%) también fue activo sobre *P. oleracea* y *C. canadensis*, siendo la actividad fitotóxica proporcional a la cantidad de carvacrol (Verdeguer, 2011). De acuerdo con los resultados obtenidos y la bibliografía consultada, los aceites esenciales con un gran contenido en carvacrol muestran un gran potencial fitotóxico. Sin embargo, no son selectivos frente a las especies que actúan, lo que podría producir efectos no deseados sobre especies de interés.

El aceite esencial de *S. cuneifolia* mostró idéntica efectividad sobre *A. hybridus* y *C. canadensis*, inhibiendo la germinación más de un 95% en todos los casos. Sin embargo, sobre *P. oleracea* (que el anterior aceite inhibió completamente), se redujo la germinación entre un 19.28 y un 36.27%.

Este aceite esencial redujo el crecimiento de las plántulas germinadas de *P. oleracea* entre un 26.86 y 51.11%. El alcanfor fue el componente mayoritario de esta esencia (47.61%), seguido de canfeno (13.58%). Según estos resultados, el efecto fitotóxico del aceite esencial varía según la especie sobre la que se aplica. De acuerdo con esto, el aceite esencial de *Achillea gypsicola* Hub-Mor., con un 40.17% de alcanfor, y el de *Achillea biebersteinii* Afan (23.56%) se probaron sobre *A. retroflexus*, *Cirsium arvense* L. (Scop.), *Lactuca serriola* L., *C. album* y *Rumex crispus* L. Sobre las tres primeras, ambos aceites controlaron claramente la germinación. Sobre *R. crispus* prácticamente no tuvo efecto ninguno de los dos, mientras que sobre *L. serriola* el primer aceite estimuló la germinación y el segundo la inhibió ligeramente (Kordali *et al.*, 2009). Por otra parte, el aceite esencial de *Tanacetum aucheranum* L. (con alcanfor como segundo compuesto mayoritario representando un 11.6%) y *Tanacetum chiliophyllum* Sch. Bip. var. *chiliophyllum* (compuesto mayoritario el alcanfor, 17.9%), controlaron totalmente la germinación de las arvenses *A. retroflexus*, *C. album* y *R. crispus* (Salamci *et al.*, 2007). El alcanfor puro se ha sido descrito también como inhibidor de la raíz de *Zea mays* L. (Zunino y Zygadlo, 2004) y de *Brassica campestris* L. (Nishida *et al.*, 2005). Según este trabajo y la bibliografía consultada, la eficacia del aceite esencial de *S. cuneifolia* es selectiva en función de las especies sobre las que se aplica. Esta selectividad podría resultar interesante a fin de utilizar herbicidas selectivos naturales para la protección de cultivos.

La primera localidad de *S. innota* (Culla) tuvo el mirceno (21.58%) como compuesto mayoritario del aceite esencial, seguido de β -cariofileno (10.42%) y alcanfor (10.35%). Presentó una actividad herbicida bastante parecida a la del aceite esencial de *S. cuneifolia*. *A. hybridus* fue la arvense más sensible (reduciendo la germinación por encima de un 96%) seguida de *C. canadensis* (por encima de un 85%). *P. oleracea* volvió a ser la más resistente al tratamiento, reduciendo la germinación entre un 32.9 y un 44.5%. El crecimiento de las plántulas germinadas se redujo desde un 48.3 hasta un 75.7%. Recientemente, el mirceno, compuesto mayoritario (29.27%) del aceite esencial de *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. se ha descrito como inhibidor de la germinación y crecimiento de la radícula en *Cyperus rotundus* L., *Avena fatua* L. y *Phalaris minor* Retz. (Singh *et al.*, 2009). También el aceite de *A. scoparia* (donde el mirceno fue el tercer compuesto cuantitativamente representando un 13.95%) redujo la germinación de las arvenses *Achyranthes aspera* L., *Cassia occidentalis* L., *Parthenium hysterophorus* L., *Ageratum conyzoides* L. y *E. crus-galli* por encima del 67% en todos los casos a la máxima concentración (50 μ g de aceite por g de tierra ensayada).

Nuevamente este aceite muestra selectividad en función de la planta donde se aplica por lo que, al igual que ocurría con el aceite esencial de *S. cuneifolia*, sería interesante a la hora de buscar un herbicida selectivo.

La segunda localidad de *S. innota* (Sueras) presentó una esencia donde el sesquiterpeno hidrocarbonado β -cariofileno fue el compuesto mayoritario (13.29%) seguido del geraniol (10.68%). Esta esencia inhibió prácticamente la germinación de *A. hybridus*, como ocurría con el anterior aceite esencial de esta misma especie. Sin embargo, esta esencia tuvo mayor actividad fitotóxica que el anterior aceite esencial sobre *P. oleracea*, reduciendo la germinación hasta un 96.5% en la mayor concentración, y menor efecto sobre la germinación de *C. canadensis*, llegando a inhibir desde un 73.0 a un 97.8%. Se confirma de esta forma la selectividad de la aplicación de aceites esenciales como herbicidas naturales en función de la planta sobre la que se emplea y la composición del aceite esencial. Son varios los autores que indican que los compuestos monoterpénicos son los encargados de la inhibición de la germinación, confirmando una correlación positiva entre el contenido en monoterpenos y la actividad del aceite esencial (Dudai *et al.*, 2004; Arminante *et al.*, 2006). El geraniol puro se ha sido descrito como inhibidor de la raíz de *Z. mays* (Zunino y Zygadlo, 2004), por lo que la actividad de este aceite esencial puede ser debida a este compuesto.

El último aceite esencial utilizado, procedente de la especie *S. intricata* de Navalón (INTR 3) tuvo, como sucedía con el aceite esencial de *S. cuneifolia*, el alcanfor como componente mayoritario. Sin embargo, en esta ocasión el porcentaje del mismo fue de 23.26% (prácticamente la mitad que el anterior aceite esencial). La actividad sobre *A. hybridus* fue bastante parecida con respecto aceite esencial de *S. innota* 2, inhibiendo prácticamente la totalidad de la germinación a todas las concentraciones ensayadas. El efecto mostrado sobre *P. oleracea* también fue bastante similar. Sin embargo, sobre *C. canadensis* no tuvo tanto efecto, reduciendo la germinación desde un 55.1% a la menor concentración hasta un 97.8% a la mayor, mientras que con el anterior aceite esencial de *S. innota* 2, se redujo la germinación en un 97% en las dos primeras concentraciones y un 100% en las dos concentraciones mayores. Nuevamente se corrobora no sólo la selectividad de la actividad del aceite esencial según la especie sobre la que se aplica sino también cómo la presencia de otros compuestos mayoritarios en el aceite esencial influyen en su actividad. Además, según los resultados obtenidos con los dos aceites con alcanfor como compuesto mayoritario, la actividad herbicida del aceite esencial sobre *C. canadensis* es proporcional a la cantidad de

alcanfor (compuesto con actividad herbicida como se ha descrito anteriormente) en el aceite esencial.

Para terminar, a tenor de nuestros resultados y según toda la bibliografía consultada, podemos afirmar nuevamente que la actividad del aceite esencial depende de la especie frente a la que actúan, así como la composición y concentración a la que se aplican los aceites. Así, el aceite de *S. montana*, rico en el componente carvacrol ha sido el más efectivo sobre *P. oleracea* y *C. canadensis* mientras que los aceites esenciales de *S. innota* (Sue-ras) y *S. intricata* han sido los más efectivos sobre *A. hybridus*. A nivel de arvenses, *A. hybridus* ha sido la especie más sensible al tratamiento con aceite esencial y *P. oleracea* la más resistente.

Al igual que sucedía en la actividad fitotóxica, se ha mostrado variabilidad en la actividad antifúngica del aceite esencial en función del aceite esencial utilizado y la especie de hongo/oomiceto sobre la que actúa. Tal y como ocurría con la actividad herbicida, el aceite más eficaz en la reducción de crecimiento miceliar fue el de *S. montana*. Teniendo en cuenta la composición química de dicho aceite esencial, parece claro que existe una relación entre su elevada actividad fungicida y la presencia de compuestos fenólicos en el aceite esencial como el carvacrol (39.21%) y sus precursores *p*-cimeno (21.57%) y γ -terpineno (14.72%), tal y como se ha confirmado en numerosos estudios previos de esta misma especie u otras con idéntica composición (Giordani *et al.*, 2004; Skočibušić y Bezić, 2004 a y b; Azaz *et al.*, 2005; Bezić *et al.*, 2005; Tampieri *et al.*, 2005; Fraternali *et al.*, 2007). Así, el componente carvacrol fue el mayoritario (31.43%) en el aceite esencial *S. montana* recolectada en Francia (Giordani *et al.*, 2004) y aplicado sobre el crecimiento de la levadura *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout. Estos autores determinaron una concentración mínima inhibitoria 80% (concentración mínima en la que el crecimiento de la colonia fue menor del 80% con respecto al control) de 2,1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de aceite esencial. En este mismo estudio se ensayaron otros aceites esenciales, destacando la concentración mínima inhibitoria 80% de *O. vulgare* (carvacrol 81.94%) que fue de 0.4 $\mu\text{L}/\text{mL}$ y de *T. vulgaris* (quimiotipo timol, 63.22%) que fue de tan solo 0.02 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Estos resultados reforzarían la hipótesis de que la actividad fungicida viene marcada en gran modo por el carvacrol o su isómero timol. Nuevamente el carvacrol (48.7%) fue el compuesto mayoritario en el aceite esencial de *S. cuneifolia* (Azaz *et al.*, 2005), determinándose una concentración mínima inhibitoria de 2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en un estudio de actividad antimicrobiana frente a la levadura *C. albicans*. En Croacia (Skočibušić y Bezić, 2004a; Bezić *et al.*, 2005), se llevaron a cabo ensayos de actividad

antifúngica del aceite esencial de *S. montana* y *S. cuneifolia* sobre dos levaduras (*C. albicans* y *Saccharomyces cerevisiae* Meyen) y el hongo *Aspergillus fumigatus* Pers. En ambos casos utilizaron los mismos aceites esenciales para los diferentes ensayos, resultando el componente mayoritario del aceite esencial de *S. montana* el carvacrol (45.7%), mientras que el de *S. cuneifolia* fue el β -cubebeno (8.7%). En el primer trabajo (Skočibušić y Bezić, 2004a), se determinó la concentración mínima inhibitoria, transfiriendo diferentes concentraciones del aceite esencial a placas Petri con los diferentes hongos en medio de cultivo PDA (patata, dextrosa, agar). Sobre *A. fumigatus* ambos aceites presentan una CMI de 5000 $\mu\text{g/mL}$. Para la levadura *C. albicans* esta concentración fue de 600 $\mu\text{g/mL}$ de aceite esencial de *S. montana* y de 1200 $\mu\text{g/mL}$ de aceite esencial de *S. cuneifolia*. La CMI del aceite esencial de *S. montana* sobre *S. cerevisiae* fue de 1200 $\mu\text{g/mL}$ mientras que para el aceite esencial de *S. cuneifolia* fue de 5000 $\mu\text{g/mL}$. En el segundo trabajo (Bezić *et al.*, 2005), se determinó la inhibición miceliar a dos concentraciones distintas (10 y 20 μL) de dichos aceites. El aceite esencial de *S. montana* inhibió a las concentraciones de 10 y 20 μL respectivamente, 10 y 16 mm el diámetro de la colonia del hongo *A. fumigatus*, 21 y 28 mm en *C. albicans* y 16 y 19 mm en *S. cerevisiae*. Por otro lado, el aceite esencial de *S. cuneifolia*, inhibió 11 y 15 mm respectivamente en *A. fumigatus*, 14 y 17 mm en *C. albicans*, y 11 y 14 mm en *S. cerevisiae*. Skočibušić *et al.* (2004) trabajaron nuevamente con el aceite esencial de *S. cuneifolia* sobre estos mismos hongos con aceite esencial proveniente de esta especie antes, durante y después de la floración. El compuesto mayoritario en los tres periodos fue el linalol (18.2, 17.2 y 17.9%, respectivamente), mientras que el carvacrol tuvo un máximo en la época de floración (16.3%), disminuyendo en las otras dos épocas (5.0% antes de la floración y 7.1% después). La concentración mínima inhibitoria (MIC) fue mayor para los tres hongos con el aceite esencial procedente de antes de la floración, mientras que con el aceite esencial extraído durante y después de la floración no hubieron diferencias. También determinaron la concentración mínima fungicida (CMF) siendo en este caso la misma para los tres aceites esenciales ensayados para *A. fumigatus* mientras que en los otros dos (*C. albicans* y *S. cerevisiae*) fue menor con el aceite esencial obtenido durante la floración (la mitad y la cuarta parte, respectivamente). Estos resultados vuelven a reforzar la hipótesis de que el carvacrol tiene una elevada actividad fungicida. Dos de estos autores (Skočibušić y Bezić, 2004b), ensayaron la actividad del aceite esencial de *S. montana* antes, durante y después de la floración sobre 2 hongos (*Aspergillus niger* Tiegh y *A. fumigatus*) y 3 levaduras (*Candida rugosa* (H.W. Anderson) Diddens & Lodder, *C. albicans*, y *S. cerevisiae*), determinando la concentración mínima inhibitoria. Se observó la máxima proporción del compuesto

carvacrol en las muestras recolectadas antes de la floración (52.4%), seguida de plena floración (26.2%) y después de floración (16.1%). En este último caso el carvacrol pasó a ser el segundo componente cuantitativo por detrás del *p*-cimeno (25.6%). No se observaron diferencias significativas en la CMI en las tres épocas de muestreo para el caso de *C. albicans* (600 µg/mL) y *S. cerevisiae* (1200 µg/mL). *A. fumigatus* fue inhibido a la misma concentración (CMI) con los aceites esenciales recogidos antes y después de la floración (5000 µg/mL), disminuyendo a la mitad dicha concentración con el aceite obtenido durante la floración (2500 µg/mL). *A. niger* fue más sensible (menor CMI) con el aceite esencial de antes de la floración (600 µg/mL), incrementándose hasta los 5000 µg/mL con el aceite esencial obtenido durante y después de la floración. Por último, *C. rugosa* fue inhibida a la misma concentración con el aceite esencial obtenido antes y durante la floración (600 µg/mL), duplicándose dicha cantidad (1200 µg/mL) en el caso del aceite esencial posterior a la floración. En Italia (Tampieri *et al.*, 2005) se ensayó la actividad antifúngica del aceite esencial de *S. montana* (con carvacrol como compuesto mayoritario, 27.06%) nuevamente sobre el crecimiento de *C. albidans*, obteniendo una CMI de 0.5 µL/mL. También en Italia (Fraternale *et al.*, 2007) se realizó un ensayo con el aceite esencial de *S. montana* (nuevamente carvacrol como componente mayoritario, 18.0%) con el objetivo de evaluar su actividad antifúngica contra nueve hongos fitopatógenos: *Fusarium poae* (Peck) Wollenw., *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., *Fusarium graminearum* Schwabe, *Fusarium sporotrichoides* Sherb., *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc., *Alternaria solani* Sorauer, *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, *Phytophthora cryptogea* Pethybr. & Laff. y *Botrytis cinerea* Pers. Se determinó en este caso la concentración mínima inhibitoria de aceite esencial sobre estos nueve patógenos, cuyo valor osciló entre los 100 µL/mL (*F. graminearum* y *F. sporotrichoides*), 150 µL/mL (*F. poae* y *F. equiseti*), 250 µL/mL (*F. culmorum*, *R. solani*, *P. cryptogea* y *B. cinerea*) y los 300 µL/mL (*A. solani*). Nuevamente en Italia (Lopez-Reyes *et al.*, 2010), comprobaron la eficacia de diversos aceites esenciales, entre los que se encontraba *S. montana* (*p*-cimeno 40.59% y carvacrol 36.19%), en el control de dos hongos de poscosecha: *Penicillium expansum* Link y *B. cinerea*. En este caso el ensayo consistió en inocular sobre heridas realizadas en frutos de cuatro variedades de manzana (Golden Delicious, Granny Smith, Red Chief y Royal Gala) el agente patógeno y añadir distintas concentraciones del aceite esencial (1 y 10 %) sobre ella, midiendo a los 15 y 30 días el diámetro de la podredumbre que había causado el hongo. La inhibición de la podredumbre de los frutos tratados con aceite esencial fue en todos los casos estadísticamente significativa.

Mayor selectividad mostró el segundo aceite esencial en efectividad antifúngica: *S. innota* de Sueras. Este aceite tiene como compuestos mayoritarios el β -cariofileno (13.29%) seguido del geraniol (10.68%). No se han realizado estudios previos con el aceite esencial de esta especie, pero estos compuestos tiene también propiedades antifúngicas tal y como han sido descritas por diversos autores (Cakir *et al.*, 2004; Tampieri *et al.*, 2005).

Destaca la baja actividad antifúngica mostrada por los aceites esenciales ricos en el compuesto alcanfor (*S. cuneifolia*, *S. intricata* y *S. innota* de Culla). Además, a medida que se incrementa la proporción de dicho compuesto, la actividad es menor (*S. cuneifolia*), por lo que según nuestros resultados, este componente no presenta actividad antifúngica patente.

En cuanto a los aislados, *P. palmivora* fue el aislado más sensible de todos los ensayados, seguido de *Pa. Chlamydozpora* y *P. citrophthora*. Aunque no se han llevado a cabo estudios de actividad de estos aceites esenciales sobre estas especies, la sensibilidad mostrada por estos aislados concuerda con otros autores (Bouchra *et al.*, 2003; Mongkolsuk *et al.*, 2009). Por otro lado, los hongos *C. gloeosporioides*, *R. solani*, *Pe. hirsutum*, *Py. litorale* y *V. dahliae* fueron los más resistentes al tratamiento con los distintos aceites esenciales, mostrando únicamente inhibición con el aceite esencial de *S. montana*. La resistencia mostrada por estas cepas coincide con otros resultados observados por Ushiki *et al.* (1996), Abou-Jawdah *et al.* (2002) o Tzortzakakis y Economakis (2007).

Esta selectividad obtenida en la actividad antifúngica en función de la composición del aceite esencial y el aislado sobre el que se aplica podría resultar interesante para la utilización de fungicidas naturales selectivos en protección de cultivos.

Por último, el aceite esencial de *S. montana* se ha determinado como era de esperar el de mayor capacidad antioxidante. Estudios previos realizados sobre esta misma especie revelan que compuestos fenólicos como el carvacrol (mayoritario en este aceite esencial) posee una elevada actividad antioxidante (Eminagaoglu *et al.*, 2007; Cavar *et al.*, 2008; Oke *et al.*, 2009; Serrano *et al.*, 2011; Coutinho de Oliveira *et al.*, 2012). La actividad antioxidante de estos compuestos es debida principalmente a sus propiedades redox, que les permite actuar como agentes reductores y desactivadores del oxígeno. Además, tiene una importante capacidad de producir quelatos con el hierro, principal agente de oxidación (Rice-Evans *et al.*, 1995; Yanishlieva *et al.*, 1999). Evitar esta oxidación mediante agentes antioxidantes es

importante tanto desde el punto de vista de la salud humana como económico, ya que estos cambios en los alimentos afectan a su calidad nutricional, salubridad, seguridad, color, sabor y textura (Shahidi *et al.*, 1992). Existe una creciente preocupación por la búsqueda de antioxidantes naturales debido a que los antioxidantes sintéticos pueden implicar riesgos para la salud humana incluido cáncer (Hou, 2003; Zhang *et al.*, 2010). Nuestros resultados muestran que el aceite esencial de *S. montana* podría ser utilizado como antioxidante natural alimentario.

6. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1.- La morfología y fitoquímica de las especies de *Satureja* estudiadas apoya la taxonomía propuesta en Flora Iberica para este género.
- 2.- El aceite esencial de *Satureja montana* L. se caracteriza por un alto contenido en el monoterpeno oxigenado carvacrol seguido de sus precursores biogénicos hidrocarbonados *p*-cimeno y γ -terpineno. *Satureja innota* (Pau) G. López elabora un aceite esencial rico en linalol o geraniol según la localidad de procedencia. *Satureja cuneifolia* Ten. y *Satureja intricata* Lange biosintetizan alcanfor como compuesto mayoritario de su aceite esencial, diferenciándose en el porcentaje de dicho monoterpeno oxigenado.
- 3.- La variación estacional de la composición de los aceites esenciales está relacionada con el factor climático temperatura.
- 4.- La actividad fitotóxica de los aceites esenciales depende de la arvense sobre la que actúan, así como de su composición y concentración a la que se aplican. *Amaranthus hybridus* L. ha sido la arvense más sensible y *Portulaca oleracea* L. la más resistente al tratamiento con los aceites esenciales ensayados.
- 5.- El aceite esencial de *S. montana* fue el más efectivo en los ensayos de actividad fungicida, mientras que el resto de aceites esenciales mostraron mayor selectividad.
- 6.- *Phytophthora palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler fue el aislado más sensible de todos los ensayados, seguido de *Phaemoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams y *P. citrophthora* (R.E. & E.H. Sm.) Leonian, mientras que los aislados *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Penicillium hirsutum* Dierckx, *Pythium litorale* Nechw. y *Verticillium dahliae* Kleb., fueron los más resistentes al tratamiento con los aceites esenciales.

- 7.- La selectividad obtenida en la actividad herbicida y fungicida en función del aceite esencial, arvense y aislado sobre el que se aplica podría resultar interesante para la utilización de herbicidas o fungicidas naturales selectivos en protección de cultivos.
- 8.- La actividad antioxidante mostrada por el aceite esencial de *S. montana* podría ser empleada en la conservación de alimentos.

CONCLUSIONS

- 1.- The morphological and phytochemical results of *Satureja* species studied supports the taxonomy proposed in Flora Iberica for this genus.
- 2.- *S. montana* L. essential oil is characterized by a high content in the oxygenated monoterpene carvacrol followed by its biogenetic hydrocarbons precursors *p*-cymene and γ -terpinene. *S. innota* (Pau) G. Lopez produces an essential oil rich in linalool or geraniol according to the locality of origin. *S. cuneifolia* Ten. and *S. intricata* Lange contains camphor as the main compound in their essential oils, differing both in the percentage of this oxygenated monoterpene.
- 3.- The seasonal variation in the composition of the essential oils is related to the climatic factor temperature.
- 4.- The phytotoxic activity of the essential oils depends on the weed against they are applied, as well as its composition and concentration applied. *Amaranthus hybridus* L. has been the most sensible weed and *Portulaca oleracea* L. the most resistant to treatment with the essential oils tested.
- 5.- *S. montana* essential oil was the most effective in fungicidal activity assays, while the remaining essential oils showed greater selectivity.
- 6.- *Phytophthora palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler was the most sensitive isolated of all assayed, followed by *Phaemoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams and *P. citrophthora* (R.E. & E.H. Sm.) Leonian, whereas *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Penicillium hirsutum* Dierckx, *Pythium litorale* Nechw. and *Verticillium dahliae* Kleb. were the most resistant to treatment with the essential oils tested.

- 7.- The obtained herbicide and fungicide selectivity depending on the essential oil and weed or isolated on applying, could be interesting in order to use the essential oils as selective natural herbicides or fungicides in crop protection.
- 8.- The antioxidant activity showed by *S. montana* essential oil could be employed in food preservation.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelgaleil, S.A.M. y Hashinaga, F., 2007. Allelopathic potential of two sesquiterpene lactones from *Magnolia grandiflora* L. *Biochemical Systematics and Ecology* 35: 737-742.
- Abou-Jawdah, Y., Sobh, H. y Salameh, A., 2002. Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3208-3213.
- Adams, P., 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation. Ed. Carol Stream, Illinois. ISBN: 0-931710-85-5.
- Adams, P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation. Ed. Carol Stream, Illinois. ISBN: 978-1-932633-21-4.
- Alcaraz Ariza, F.J., Sánchez Gómez, P. y Correal Castellanos, E., 1989. Catálogo de las plantas aromáticas, condimentarias y medicinales de la Región de Murcia. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Murcia. ISBN: 84-7498-321-5.
- Altun, M. y Goren, A. C., 2007. Essential oil composition of *Satureja cuneifolia* by simultaneous distillation-extraction and thermal desorption GC-MS techniques. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 10: 139-144.
- Anaya, A.L., 1999. Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18: 697-739.
- Angelini, L.G., Carpanese, G., Cioni, P.L., Morelli, I., Macchia, M. y Flamini, G., 2003. Essential Oils from Mediterranean *Lamiaceae* as Weed Germination Inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 6158-6164.
- Angelopoulou, D., Demetzos, D. y Perdetzoglou, D., 2002. Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis* L. leaves. *Biochemical Systematics and Ecology* 30: 189-203.
- Argyropoulos, E.I., Eleftherohorinos, I.G. y Vokou, D., 2008. In vitro evaluation of essential oils from Mediterranean aromatic plants of the

Lamiaceae for weed control in tomato and cotton crops. *Allelopathy Journal* 22: 69-78.

Arminante, F., De Falco, E., De Feo, V., De Martino, L., Mancini, E. y Quaranta, E., 2006. Allelopathic activity of essential oils from Mediterranean *Labiatae*. *Acta Horticulturae* 723: 347-352.

Arteche, A., Fernández, J. A., Güenechea, J.J. y Vanaclocha, B., 2000. Fitoterapia. *Vademecum de prescripción*. Ed. Masson, España. ISBN: 978-84-458-1220-4.

Aydin, S., Oztürk, Y., Beis, R. y Baser, K.H.C., 1995. Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity. *Phytotherapy Research* 10: 342-344.

Azaz, A.D., Kürkcüoğlu, M., Satil, F., Baser, K.H.C. y Tümen, G., 2005. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of some *Satureja* essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 20: 587-591.

Azirak, S. y Karaman, S., 2008. Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science* 58: 88-92.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck D. y Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology* 46: 446-475.

Baraldi, M., 2006. Use of winter savory or its extracts and rosmarinic acid or extracts containing rosmarinic acid for preparation of medicaments for treating premature ejaculation. Patent WO2006037535-A2; EP1793840-B1; NO7976878-B2 (12 julio 2011).

Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G. y Karadoğan, T., 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Tymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control* 15: 169-172.

Benzie, I.F. y Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.

Bezbradica, D.I., Tomovic, J.M., Vukasinovic, M.S., Siler-Marinkovic, S., y Ristic, M.M., 2005. Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Satureja montana* L. collected in Serbia and Montenegro. *Journal of Essential Oil Research* 17: 462-465.

Bezić, N., Skočibušić, M. y Dunkić, V., 2005. Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. and *Satureja cuneifolia* Ten. essential oils. *Acta Botanica Croatica* 64: 313-322.

Bezić, N., Ivica, S., Dunkić, V., Besendorfer, V. y Puizina, J., 2009. Essential oil composition and internal transcribed spacer (ITS) sequence variability of four South-Croatian *Satureja* species (Lamiaceae). *Molecules* 14: 925-938.

Biavati, B., Özcan, M. y Piccaglia, R., 2004. Composition and antimicrobial properties of *Satureja cuneifolia* Ten. and *Thymbra sintesii* Bornm. et Aznav. subsp. *isaurica* PH. Davis essential oils. *Annals of Microbiology* 54: 393-401.

Black, C.A., 1968. *Soil-plant relationships*. Ed. John Wiley & Sons, New York.

Blanquer, A., Boira, H., Soler, V. y Pérez, I., 1998. Variability of the essential oil of *Thymus piperella*. *Phytochemistry* 47: 1271-1276.

Blázquez, M.A., 2012. *Pharmacognosy Skills*. Ed. Obrapropia, Valencia. ISBN: 978-84-15453-45-1.

Bolòs, O., Font, X. y Vigo, J., 2003. *Atlas corològic de la flora vascular dels països catalans*. Vol. 12. Institut d'Estudis Catalans. Ed. Orca, Barcelona. ISBN: 84-7283-706-8.

Bolòs, O., Vigo, J., Masalles, R.M. y Ninot, J.M., 2005. *Flora manual del Paísos Catalans*. Ed. Pòrtic, Barcelona. ISBN: 978-84-7306-857-4.

Bouchra, C., Mohamed, A., Hassani, I. y Hmamouchi, M., 2003. Antifungal activity of essential oils from several medicinal plants against four postharvest citrus pathogens. *Phytopathologia Mediterranea* 42: 251-256.

Bouyoucos, G.J., 1936. Directions for marking mechanical analyses of soils by the hydrometer method. *Soil Science* 42: 225-228.

Bruneton, J., 1999. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, second ed. Ed. Intercept Ltd., London. ISBN: 1898298637.

Burt, S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. *International Journal of Food Microbiology* 94: 223–253.

Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Izumi, S. y Hirata, T., 2004. Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*. *Flavour and Fragrance Journal* 19: 62-68.

Calixto, J.B., 2005. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 131-134.

Carson, C.F. y Riley, T.V., 2003. Non-antibiotic therapies for infectious diseases. *Communicable Diseases Intelligence Quarterly Report* 27: 143-146.

Ćavar, S., Maksimović, M., Šolić, M.E., Jerković-Mujkić, A. y Bešta, R., 2008. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chemistry* 111: 648-653.

Chao, S.C., Young, D.G. y Oberg, C.J., 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research* 12: 639-649.

Chorianopoulos, N., Evergets, E., Mallouchos, A., Kalpoutzakis, E., Nychas, G.J. y Haroutounian, S.A., 2006. Characterization of the essential oil volatiles of *Satureja thymbra* and *Satureja parnassica*: influence of harvesting time and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 3139-3145.

Chung, I. M., Kim, J. T. y Kim, S.H., 2006. Evaluation of allelopathic potential and quantification of momilactone A, B from rice hull extracts and assessment of inhibitory bioactivity on paddy fields weeds. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 54: 2527-2536.

Comisión de Métodos Oficiales, 1975. Métodos Oficiales de Análisis: Suelos y Aguas. Ministerio de Agricultura. Madrid.

Coutinho de Oliveira, T.L., Malfinato de Carvalho, S., De Araujo Soares, R., Aparecida Andrade, M., Das Graças Cardoso, M., Mendes Ramos, E. y Hilsdorf Piccoli, R., 2012. Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *LWT - Food Science and Technology* 45: 204-212.

Croteau, R., 1987. Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. *Chemical Reviews* 87: 929-954.

Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B., Warber, S.L., Duke, J.A. y Brielmann, H.L., 2006. *Natural Products from Plants. Second Edition.* Ed. Taylor & Francis Group, Boca Raton. ISBN: 978-0-8493-2976-0.

De Haro, J.J., 1999. ¿Qué es una especie? *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa* 26: 105-112.

De la Torre Carrera, R. y López González, J., 2010. Las plantas aromáticas y medicinales. Futuro y potencialidad en Extremadura. Caja de Badajoz. *Revista de Agricultura.*

Djenane, D., Yangüela, J., Montañés, L., Djerbal, M. y Roncales, P., 2011. Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control* 22: 1046-1053.

Dudai, N., Ben-Ami, M., Chaimovich, R. y Chaimovitsh, D., 2004. Essential oils as allelopathic agents: bioconversion of monoterpenes by germinating wheat seeds. *Acta Horticulturae* 629: 505-508.

Dudai, N., Poljakoff-Mayber, A., Mayer, A.M., Putievsky, E. y Lerner, H. R., 1999. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *Journal of Chemical Ecology* 25: 1079-1089.

Duke, S.O., Baerson, S.R., Dayan, F.E., Rimando, A.M., Scheffler, B.E., Tellez, M.R., Wedge, D.E., Schrader, K.K., Akey, D. H., Arthur, F H., De Luca, A.J., Gibson, D.M., Harrison, H.,F.Jr., Peterson, J K., Gealy, D.R.,

Twoorkoski, T., Wilson, C.L. y Morris, J.B., 2003. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service: research on natural products for pest management. *Pest Management Science* 59, 708-717.

Einhellig, F.A., 1995. Allelopathy: organisms, processes and applications. American Chemical Society. Chapter 1: Allelopathy: current status and future goals. Chapter 7: Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy. ACS Symposium Series. ISBN: 9780841230613 .

Elakovich, S.D., 1988. Terpenoids as models for new agrochemicals, en: Cutler, H.G. (Ed.), *Biologically active natural products-potential use in agriculture*. American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 250-261.

Eminagaoglu, O., Tepe, B., Yumrutas, O., Akpulat, H.A., Daferera, D., Polissiou, M. y Sokmen, A., 2007. The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja spicigera* (K. Koch) Boiss. and *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry* 100: 339-343.

Finney, D.J., 1971. Probit analysis. 3rd edition. Ed. Cambridge University Press, Cambridge. ISBN: 0-521-08041-X.

Fischer, N.H., 1986. The function of mono and sesquiterpenes as plant germination and growth regulators, en: Putnam, A.R., Tang, C.S. (Eds.), *The Science of Allelopathy*. Wiley, New York, pp. 203-218.

Flora Iberica, 2010. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol XII Verbenaceae – Labiatae – Callitrichaceae. Real Jardín Botánico, C.S.I.C., Madrid, pp. 414-421.

Fraternale, D., Giampieri, L., Bucchini, A., Ricci, D., Epifano, F., Genovese, S. y Curini, M., 2007. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Satureja montana* from central Italy. *Chemistry of Natural Compounds* 43: 622-624.

Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., Mikail, C., Abou, L. y Portugal, H., 2004. Antifungal Effect of Various Essential Oils against *Candida albicans*. Potentiation of Antifungal Action of Amphotericin B by Essential Oil from *Thymus vulgaris*. *Phytotherapy Research* 18: 990-995.

Grosso, C., Coelho, J.A., Urieta, J.S., Palavra, A.M.F. y Barroso, J.G., 2010. Herbicidal activity of volatiles from coriander, winter savory, cotton laven-

der, and thyme isolated by hydrodistillation and supercritical fluid extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 11007-11013.

Grosso, C., Coutinho de Oliveira, A., Mainar, A.M., Urieta, J.S., Barroso, J.G. y Palavra, A.M.F., 2009a. Antioxidant activities of the supercritical and conventional *Satureja montana* extracts. *Journal of Food Science* 74: C713-C717.

Grosso, C., Figueiredo, A.C., Burillo, J., Mainar, A.M., Urieta, J.S., Barroso, J.G., Coelho, J.A. y Palavra, A.M.F., 2009b. Enrichment of the thymoquinone content in volatile oil from *Satureja montana* using supercritical fluid extraction. *Journal of Separation Science* 32: 328-334.

Grover, R.K. y Moore, J.D., 1962. Toxicometric studies of fungicides against brown rot organisms *Sclerotinia fructicola* and *S. laxa*. *Phytopathology* 52: 876-880.

Gruenwald J., 2010. The global herbs and botanicals market; Herbs and botanicals are currently showing the most potential in functional foods and cosmeceuticals. *Nutraceuticals World*.

Halberstein, R.A., 2005. Medicinal plants: Historical and cross-cultural usage patterns. *Annals of Epidemiology* 15: 686-699.

Harborne, J.B., 1985. *Introducción a la bioquímica ecológica*. Ed. Alhambra, Madrid. ISBN: 8428327173.

Hegnauer, R., 1962. *Chemotaxonomie der Pflanden*, vol. I. Birkhäuser Verlag Basel, Germany.

Heindrich, M., Barnes, J., Gibbons, S. y Williamson, E.M., 2004. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Ed. Churchill Livingstone, Edinburgh. ISBN: 9780702033889.

Heisey, R.M. y Heisey, T.K., 2003. Herbicidal effects under field conditions of *Ailanthus altissima* bark extract, which contains ailanthone. *Plant Soil* 256: 85-99.

Hou, D. X., 2003. Potential mechanism of cancer chemoprevention by anthocyanin. *Current Advancements in Molecular Medicines* 3: 149-159.

Ibraliu, A., Dhillon, B.S., Faslia, N. y Stich., B., 2010. Variability of essential oil composition in Albanian accessions of *Satureja montana* L. Journal of Medicinal Plants Research 4: 1359-1364.

Ibraliu, A., Mi, X. y Elezi, F., 2011a. Variation in essential oils to study the biodiversity in *Satureja montana* L. Journal of Medicinal Plants Research 5: 2978-2989.

Ibraliu, A., Mi, X., Ristić, M., Stefanovic, Z.D. y Shehu, J., 2011b. Analysis of essential oils of three wild medicinal plants in Albania. Journal of Medicinal Plants Research 5: 58-62.

Jasicka-Misiak, I., Wieczorek, P.P. y Kafarski, P., 2005. Crotonic acid as a bioactive factor in carrot seeds (*Daucus carota* L.). Phytochemistry 66: 1485-1491.

Jerković, I., Mastelić, J. y Miloš, M., 2001. The impact of both the season of collection and drying on the volatile constituents of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* grown wild in Croatia. International Journal of Food Science and Technology 36: 649-654.

Jordán, M.J., Sánchez-Gómez, P., Jiménez, J.F., Quílez, M. y Sotomayor, J.A., 2010. Chemical composition and antiradical activity of the essential oil from *Satureja intricata*, *S. obovata* and their Hybrid *Satureja x delpozii*. Natural Product Communications 5: 629-634.

Kan, Y., Uçan, U.S., Kartal, M., Altun, M.L., Aslan, S., Sayar, E. y Ceyhan, T., 2006. GC-MS analysis and antibacterial activity of cultivated *Satureja cuneifolia* Ten. essential oil. Turkish Journal of Chemistry 30: 253-259.

Kokkini, S., 1991. Chemical races within the genus *Mentha* L. En: Essential oils and waxes (H.F. Likens y J.F. Jackson, eds.). Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg.

Kokkini, S., Karousou, R. y Vokou, D., 1994. Pattern of geographic variation of *Origanum vulgare* trichomes and essential oil content in Greece. Biochemical Systematics and Ecology 2: 517-528.

Kordali, S., Cakir, A., Akcin, T.A., Mete, E., Akcin, A., Aydin, T. y Kilic, H., 2009. Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane

extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. and *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Industrial Crops and Products* 29: 562-570.

Kosar, M., Demirci, B., Demirci, F y Baser, K.H.C., 2008. Effect of maturation on the composition and biological activity of the essential oil of a commercially important *Satureja* species from Turkey: *Satureja cuneifolia* Ten. (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 2260-2265.

Lamarck, J.B., 1996. Lamarck. Plantas medicinales. Ed. Liber ediciones, Navarra. ISBN: 8489339031.

Langer, R., Mechtler, Ch., Tanzler, H. O. y Jurenitsch, J., 1993. Differences of the composition of the essential oil within an individuum of *Salvia officinalis*. *Planta Medica* 59: 635-636.

Lee, S.Y., Shim, K.C. y Kil, J.H., 2002. Phytotoxic effect of aqueous extracts and essential oils from southern marigold (*Tagetes minuta*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 30: 161-169.

López González, G., 1982. Compendio de las *Saturejae* ibéricas con las noticias más notables referentes sobre todo a algunas de ellas. *Anales Jardín Botánico de Madrid* 38(2): 361-415.

Lopez-Reyes, J.G., Spadaro, D., Gullino, M.L. y Garibaldi, A., 2010. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples *in vivo*. *Flavour and Fragrance Journal* 25: 171-177.

Madsen, H.L., Nielsen. B.R., Bertelsen, G. y Skibsted. L.H., 1996. Screening of antioxidative activity of spices. A comparison between assays based on ESR sping trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption. *Food Chemistry*: 57: 331-337.

Marín, M.L., Aragón, P., Gómez, C., 2003. Análisis químico de suelos y aguas. Ed. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia (España). ISBN: 84-9705-242-0.

Martín Mosquero, M. A., Juan, R. y Pastor, J., 2006. Estudio de las núculas de *Satureja* (Lamiaceae) en el suroeste de España. *Lazaroa* 27: 13-20.

Mastelic, J., 1995. A study of the relations of terpenes and terpene glycosides of the aromatic plants belonging to the family Lamiaceae. Tesis doctoral. Zagreb. University of Zagreb.

Mastelić, J. y Jerković, I., 2003. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of free and glycoconjugated aroma compounds of seasonally collected *Satureja montana* L. Food Chemistry 80: 135-140.

Mateo Box, J.M., 1994. Los cultivos no alimentarios como alternativa al abandono de tierras. Colegio oficial de Ingenieros Agrónomos de Centro y Canarias. Ed. Agrícola Española.

Mendiola Ubillos, M.A., 2001. Guía breve de plantas aromáticas de la España Peninsular. Ed. Mundi-Prensa. ISBN: 84 8476-020-0.

Menković, N., Zdunić, G., Tasić, S., Ristić, M., Stević, T., y Šavikin, K., 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria thymifolia*, *M. dalmatica* and *Satureja cuneifolia*. Planta Medica 73: 871-872.

Michaelakis A., Theotokatos, S.A., Koliopoulos, G. y Chorianopoulos, N.G., 2007. Essential oils of *Satureja* species: insecticidal effect on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). Molecules 12: 2567-2578.

Milos, M., Radonic, A., Bezic, N. y Dunkic, V., 2001. Localities and seasonal variations in the chemical composition of essential oils of *Satureja montana* L. and *S. cuneifolia* Ten. Flavour and Fragrance Journal 16: 157-160.

Momtaz, S. y Abdollahi, M., 2010. An update on Pharmacology of *Satureja* species; from antioxidant, antimicrobial, antidiabetes and anti-hyperlipidemic to reproductive simulation. International Journal of Pharmacology 6: 346-353.

Mongkolsuk, P., Manoch, L., Buaruang, K., Poengsungnoen, V. y Siripong, P., 2009. The effect of tropical lichen extract to inhibit growth of rice sheath blight and other plant pathogenic fungi. Proceedings of the 47th Kasetsart University Annual Conference; 2009 17-20 March; Kasetsart (Thailand). Subject: Plants.

- Montserrat Martí, G., 2000. Aspectos de la vegetación en el Pirineo Central: algunas comunidades de la clase *Ononido-Rosmarinetea* principalmente del Cotiella y la Sierra de Chía. Actas Congreso de Botánica: 739-753. Teruel.
- Morales, R., 1986. Taxonomía de los géneros *Thymus* (excluida la sección *Serpyllum*) y *Thymbra* en la Península Ibérica. Ed. Ruizia, Tomo 3: 1-32. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- Mulet Pascual, L., 1991. Estudio etnobotánico de la provincia de Castellón. Diputación de Castellón. ISBN: 84-86895-24-3.
- Mulet Pascual, L., 1997. Flora tóxica de la Comunidad Valenciana. Servei de Publicacions. Diputació de Castelló. ISBN: 84-86895-88-X.
- Muller, W.H., 1986. Allelochemical mechanisms in the inhibition of herbs by chaparral shrubs, en: Putnam, A.R., Tang C.S. (eds.), The Science of Allelopathy. Wiley-Interscience, New York, pp. 189-199.
- Muller-Riebau, F.J., Berger, B.M., Yegen, O. y Cakir, C., 1997. Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 4821-4825.
- Muñoz Centeno, L.M., 2003. Plantas medicinales españolas: *Satureja montana* L. (*Lamiaceae*, ajedrea silvestre). *Lazaroa* 24: 19-23.
- Nishida, N., Tamotsu, S., Nagata, N., Saito, C. y Sakai, A., 2005. Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. Journal of Chemical Ecology 31: 1187-1203.
- Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. y Altundag, S., 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. Food Chemistry 112: 874-879.
- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. y Lacroix, M., 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control 18: 414-420.

Özgülven, M. y Tansi, S., 1996. Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L. as influenced by ecological and ontogenetical variation. *Journal of Agriculture and Forestry* 22: 537-542.

Palá-Paúl, J., Pérez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Palá-Paúl, R., Sanz, J. y Conejero, F., 2001. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp *rosmarinifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 663-672.

Pawar, V.C. y Thaker, V.S., 2006. *In vitro* efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses* 49:316-323.

Pellicer Bataller, J., 2005. *Costumari botànic : recerques etnobotàniques a les comarques centrals valencianes*. Ed. Edicions del Bullent, Picanya (Valencia). ISBN: 978-84-89663-58-9.

Pérez Roger, M.I., 2002. *Aportaciones a la Taxonomía y Ecología del género Teucrium grex pumilum*. Tesis doctoral. Universitat de València. Facultat de Farmàcia.

Perry, N.B., Anderson, R.E., Brennan, N.J., Douglas, M.H., Heaney, A.J., McGimpsey, J.A. y Smallfield, B.M., 1999. Essential oils from Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 47: 2048-2054.

Pichersky, E., Raguso, R.A., Lewinsohn, E., y Croteau, R., 1994. Floral scent production in *Clarkia* (Onagraceae). Localization and developmental modulation of monoterpene emission and linalool synthase activity. *Plant Physiology* 106: 1533-1540.

Pitarevic, I., Kuftinec, J., Blazevic, N. y Kustrak, D., 1984. Seasonal variation of essential oil yield and composition of Dalmatian sage, *Salvia officinalis*. *Journal of Natural Products* 47: 409-412.

Porta Casanellas, J., López-Acevedo Reguerín, M. y Rodríguez Ochoa, R., 1986. *Técnica y experimentos en edafología*. Col·legi Oficial d'Enginyers Agrònoms de Catalunya. ISBN: 84-600-4341-X.

Porta Casanellas, J., López-Acevedo Reguerín, M. y Roquero, C., 1994. *Edafología para la agricultura y el medioambiente*. Ed. Mundi-Prensa. ISBN: 8471144689.

Prieto, J.M., Iacopini, P., Cioni, P. y Chericoni, S., 2007. *In vitro* activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry* 104: 889-895.

Pulido, R.; Bravo, L. y Saura-Calixto, F., 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48: 3396-3402.

Putievsky, E., Ravid, U. y Dudai, N., 1986. The influence of season and harvest frequency on essential oil and herbal yields from a pure clone of sage (*Salvia officinalis*) grown under cultivated conditions. *Journal of Natural Products* 49: 326-329.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M. y Pridham, J.B., 1995. The relative antioxidants activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research* 22: 375-383.

Rivas-Martínez, 1982. Datos nomenclaturales y ecológicos sobre taxones españoles del género *Satureja*, Labiatae. *Anales Edafología Agrobiológica* 41: 1513-1516.

Rivas-Martínez, S., Penas, A., Díaz, T.E. y Fernández, F., 2007. Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España. *Itinera Geobotánica* 17: 5-436.

Rivas-Martínez, S. y Rivas-Sáenz, S., 2009. Sistema de clasificación bioclimática mundial. <http://www.globalbioclimatics.org>.

Rolim de Almeida, L.F., Frei, F., Mancini, E., De Martino, L. y De Feo, V., 2010. Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils. *Molecules* 15: 4309-4323.

Rosado, L.D.S., Rodrigues, H.C.A., Pinto, J.E.B.P., Custódio, T.N., Pinto, L.B.B. y Bertolucci, S.K.V., 2009. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjeriçao "Maria Bonita" na germinação de alface, tomate e melissa. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu* 11: 422-428.

Ruano Martínez, J.R., Albert Bernal, A. y Albert Llana, F., 1998. Cultivo de plantas aromáticas, medicinales y condimentarias en la Comunidad Valenciana. Conselleria de Medi Ambient. Generalitat Valenciana.

Ruberto, G. y Baratta, M.T., 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry* 69: 167-174.

Russo, M., Galletti, G.C., Bocchini, P. y Carnacini, A., 1998. Essential oil composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by Cluster Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 3741-3746.

Sáez, F., 1995. Essential oil variability of *Thymus hyemalis* growing wild in southeastern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology* 23: 431-438.

Salamci, E., Kordali, S., Kotan, R., Cakir, A. y Kaya, Y., 2007. Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*. *Biochemical Systematics and Ecology* 35: 569-581.

Salamone, A., Lazzara, S., Verdeguer, M., Boira H. y Blázquez, M.A., 2010. Antifungal and herbicidal activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér. essential oils, en: Program and Abstracts 16th International Reinhardtsbrunn Symposium. Modern Fungicides and Antifungal Compounds, Friedrichroda (Alemania), 25-29 April 2010, p. 170.

Saline and Alkali Soils, 1954-1969. U.S. Salinity Laboratory Staff. United States Department of Agriculture (U.S.D.A.). Handbook nº60.

Salisbury, F.B. y Ross, C.W., 2000. Fisiología de las plantas. Vol 3: Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental. Ed. Thompson-Paraninfo, Madrid. ISBN: 8428327173.

Šavikin, K.P., Menković, N.R., Zdunić, G.M., Tasić, S.R., Ristić, M.S., Stević, T.R. y Dajić-Stevanović, Z. P., 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch., *M. dalmatica* Benth. and *Satureja cuneifolia* Ten. and its secretory elements. *Journal of Essential Oil Research* 22: 91-96.

Scrivanti, R.L., Zunino, M.P. y Zygadlo, J.A., 2003. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. *Biochemical Systematics and Ecology* 31: 563-572.

Senatore, F., 1996. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 1327-1332.

Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, J., Nunes, M.L. y Marques, A., 2011. Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. extracts. *Journal of Science Food Agriculture* 91: 1554-1560.

Shahidi, F., Janitha, P. K. y Wanasundara, P. D., 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 32: 67-103.

Silva, F.V.M., Martins, A., Salta, J., Neng, N., Nogueira, J.M.F., Mira, D., Gaspar, N., Justino, J., Grosso, C., Urieta, J.S., Palavra, A.M.S. y Rauter, A.P., 2009. Phytochemical profile and anticholinesterase and antimicrobial activities of supercritical versus conventional extracts of *Satureja montana*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 11557-11563.

Singh, H.P.; Batish, D.R. y Kohli, R.K., 2003. Allelopathic interactions and allelochemicals: new possibilities for sustainable weed management. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22: 239-311.

Singh, H.P., Kaur, S., Mittal, S., Batish, D.R. y Kohli, R.K., 2009. Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibit plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. *Journal of Chemical Ecology* 35: 154-162.

Singleton, V.L., Ortholer, R. y Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods of Enzymology* 299: 152-78.

Singleton, V. L. y Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.

Sitte, P., Weiler, E.W., Kadereit, J.W., Bresinsky, A. y Körner, C., 2004. Strasburguer. Tratado de botánica. Ed. Ediciones Omega, S.A. ISBN: 978-84-282-1353-0.

Skočibušić, M., Bezić, N. y Dunkić, V., 2004. Variability of *Satureja cuneifolia* Ten. essential oils and their antimicrobial activity depending on the stage of development. *European Food Research and Technology* 218: 367-371.

Skočibušić, M. y Bezić, N., 2004a. Phytochemical analysis and *in vitro* antimicrobial activity of two *Satureja* species essential oils. *Phytotherapy Research* 18: 967-970.

Skočibušić, M. y Bezić, N., 2004b. Chemical composition and antimicrobial variability of *Satureja montana* L. essential oils produced during ontogenesis. *Journal of Essential Oil Research* 16: 387-391.

Slavkovska, V., Jančić, R., Bojović, S., Milosavljević, S. y Djoković, D., 2001. Variability of essential oils of *Satureja montana* L. and *Satureja kitaibelli* Wierzb. ex Heuff. from the central part of the Balkan peninsula. *Phytochemistry* 57: 71-76.

Soil Survey Staff, 1964. Soil Classification. A comprehensive System in 7th Aproximation. United States Department of Agriculture (USDA).

Soil Survey Staff, 1993. Soil survey manual. United States Department of Agriculture (USDA). Handbook no. 18.

Soil Survey Laboratory Information Manual, 1995. United States Department of Agriculture (USDA).

Steckel, L.E., Sprague, C.L., Stoller, E.W., Wax, L.M., 2004. Temperature effects on germination of nine *Amaranthus* species. *Weed Science* 52: 217-221.

Stoilova, I., Bail, S., Buchbauer, G., Krastanov, A., Stoyanova, A., Schmidt, E. y Jirovetz, L., 2008. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of an essential oil of *Satureja montana* L. *Natural Product Communications* 3: 1035-1042.

- Stuessy, T.F., 1990. Plant Taxonomy. The systematic evaluation of comparative data. Ed. Columbia University Press, New York. ISBN: 978-0-231-14712-5.
- Tampieri, M.P., Galuppi, R., Macchioni, F., Carelle, M.S., Falcioni, L., Cioni, P.L. y Morelli, I., 2005. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. *Mycopathologia* 159: 339-345.
- Todorović, B. y Stevanović, B., 1994. Adaptive characteristics of the endemic species *Satureja horvatii* Silić (*Lamiaceae*) in mountain-mediterranean and mediterranean habitats. *Botanical Journal of the Linnean Society* 114: 367-376.
- Tommasi, L., Negro, C., De Bellis, L. y Miceli, A., 2008. Essential oil variability of *Satureja cuneifolia* Ten. growing wild in Southern Puglia (Italy). *Journal of Essential Oil Research* 20: 295-302.
- Tümen, G., 1991. The Volatile Cosntituents of *Satureja cuneifolia*. *Journal of Essential Oil Research* 3: 365-366.
- Tümen, G., Kinmer, N., Ermin, N. y Baser, K.H.C., 1998. The essential oil of *Satureja cuneifolia*. *Palnta Medica* 64: 81-83.
- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. y Webb, D.A., 1972. *Flora europaea*. Vol. 3. Diapensiaceae to Myoporaceae. Ed. University Press, Cambridge.
- Tzortzakis, N. y Economakis, D., 2007. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8: 253-258.
- Ushiki, J., Hayakawa, Y. y Tadano, T., 1996. Medicinal plants for supressing soilborne plant diseases. I. Screening for medicinal plants with antimicrobial activity in roots. *Soil Science Plant Nutrients* 42: 423-426.
- Velasco-Negueruela, A. y Pérez-Alonso, M.J., 1983. Estudio químico del aceite esencial de diversas *Saturejas* ibéricas. *Anales Jardín Botánico de Madrid* 40: 107-118.

Verdeguer, M., 2011. Fitotoxicidad de aceites esenciales y extractos acuosos de plantas mediterráneas para el control de arvenses. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

Verdeguer, M., Blázquez, M.A. y Boira, H., 2009. Phytotoxic effects of *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriocephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops. *Biochemical Systematics and Ecology* 37: 362-369.

Verdeguer, M., García-Rellán, D., Boira, H., Pérez, E., Gandolfo, S. y Blázquez, M.A., 2011. Herbicidal activity of *Peumus boldus* and *Drimys winterii* essential oils from Chile. *Molecules* 16: 403-411.

Verdeguer M, Blázquez MA y Boira H. 2012. Chemical composition and herbicidal activity of the essential oil from a *Cistus ladanifer* L. population from Spain. *Natural Products Research* 26: 1602-1609.

Vicente, C. y Legaz, M.E., 2000. Fisiología vegetal ambiental. Ed. Síntesis, Madrid. ISBN: 84-7846-246-5.

Walkley, A., 1947. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils. Effect of variations in digestion conditions and inorganic soil constituents. *Soil Science* 63: 251-264.

Walkley, A. y Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.

Weston, L.A. y Duke, S.O., 2003. Weed and crop allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22: 367-389.

Wiley, E.O., 1978. The evolutionary species concept reconsidered. *Systematic Biology* 27: 17-26.

Willkomm, H.M. y Lange, J.M.C., 1868. *Prodromus Florae Hispanicae*. Ed. Schweizerbart (E. Koch), Stuttgartiae.

Yamasaki, K., Nakano, M., Kawahata, T., Mori, H., Otake, T., Ueba, N., Oishi, I., Inami, R., Yamane, M., Nakamura, M., Murata, H. y Nakanishi, T., 1998. Anti-HIV-1 activity of herbs in Labiatae. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 21: 829-833.

Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M., Gordon, M.H. y Raneva, V.G., 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry* 64: 59-66.

Zargari, A., 1990. *Medicinal plants*. 4th edition 42-45, Tehran University Publications, Iran.

Zavatti, M., Zanolini, P., Benelli, A., Rivasi, M., Baraldi, C. y Baraldi, M., 2011. Experimental study on *Satureja montana* as a treatment for premature ejaculations. *Journal of Ethnopharmacology* 133: 629-633.

Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F. y Liu, F., 2010. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry* 118: 656-662.

Zunino, M.P. y Zygadlo, J.A., 2004. Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize. *Planta* 219: 303-309.

**ANEXO.
TABLAS PARA LA
CARACTERIZACIÓN BIOCLIMÁTICA**

**Tabla 35: Estación microclimática de Barranco de Culla
(40° 19,457' N; 0° 8,166' W). Altitud: 801 m**

MES	T media	T med máx	T med mín	T máx	T mín	HR md
JUNIO	20,67	27,79	14,03	31,00	7,95	62,03
JULIO	21,36	27,76	15,00	35,56	11,81	67,43
AGOSTO	21,51	28,36	15,36	32,69	13,69	65,86
SEPTIEMBRE	16,46	21,70	12,30	30,52	6,51	78,22
OCTUBRE	14,73	20,41	10,15	26,94	2,40	73,39
NOVIEMBRE	10,17	14,97	6,18	22,42	0,36	66,21
DICIEMBRE	5,43	9,41	1,90	17,15	-5,82	76,34
ENERO	3,93	7,11	1,04	13,71	-4,38	71,04
FEBRERO	4,54	8,82	0,58	15,89	-4,83	70,46
MARZO	6,47	11,69	1,86	20,01	-3,96	63,84
ABRIL	10,17	15,53	5,48	24,48	1,32	68,89
MAYO	12,49	18,62	7,11	27,53	1,75	74,50

T media: temperatura media; T med máx: temperatura media de las máximas; T med mín: temperatura media de las mínimas; T máx: temperatura máxima; T mín: temperatura mínima; HR md: humedad relativa media. Periodo de observación: junio de 2009 a mayo de 2010

**Tabla 36: Estación microclimática de San Juan de Peñagolosa (40° 15,043' N;
0° 21,339' W). Altitud: 1282 m**

MES	T media	T med máx	T med mín	T máx	T mín	HR md
JUNIO	18,94	26,23	11,51	31,18	3,06	60,20
JULIO	20,45	27,59	12,64	34,31	7,07	59,02
AGOSTO	19,62	26,94	12,36	30,42	8,92	62,91
SEPTIEMBRE	13,06	18,42	8,05	28,35	0,83	83,06
OCTUBRE	11,26	18,35	5,74	25,40	-2,57	79,12
NOVIEMBRE	7,60	13,48	3,09	20,39	-3,60	66,90
DICIEMBRE	3,24	8,07	-0,68	17,34	-4,28	75,14
ENERO	0,96	4,70	-2,55	12,15	-1,15	83,08
FEBRERO	1,84	5,99	-2,02	12,15	-3,31	75,12
MARZO	3,48	9,16	-1,32	16,84	-0,69	73,52
ABRIL	7,30	13,02	2,06	21,75	-4,50	80,00
MAYO	9,79	15,98	3,84	23,86	-0,34	73,06

T media: temperatura media; T med máx: temperatura media de las máximas; T med mín: temperatura media de las mínimas; T máx: temperatura máxima; T mín: temperatura mínima; HR md: humedad relativa media. Periodo de observación: junio de 2009 a mayo de 2010

**Tabla 37: Estación microclimática de Culla (40° 19,826' N; 0° 6,671' W).
Altitud: 812 m**

MES	T media	T med máx	T med mín	T máx	T mín	HR md
JUNIO	21,89	27,85	17,10	30,90	13,91	56,67
JULIO	22,27	27,69	17,61	33,94	12,00	64,31
AGOSTO	22,70	28,15	18,55	32,23	15,25	61,47
SEPTIEMBRE	17,09	21,21	14,28	29,24	9,09	74,22
OCTUBRE	15,75	19,36	12,95	24,36	5,64	67,93
NOVIEMBRE	11,93	15,41	9,37	24,00	3,72	59,09
DICIEMBRE	7,00	9,90	4,66	17,27	-3,01	66,99
ENERO	4,79	7,17	2,76	13,79	-3,78	71,45
FEBRERO	5,37	8,35	2,91	14,51	-3,48	66,97
MARZO	7,30	11,14	4,26	18,96	-2,62	65,57
ABRIL	11,16	15,39	7,76	23,50	3,49	71,13
MAYO	13,46	18,38	9,46	26,04	3,88	65,26

T media: temperatura media; T med máx: temperatura media de las máximas; T med mín: temperatura media de las mínimas; T máx: temperatura máxima; T mín: temperatura mínima; HR md: humedad relativa media. Periodo de observación: junio de 2009 a mayo de 2010

**Tabla 38: Estación microclimática de Chiva (39° 28,383' N; 0° 46,800' W).
Altitud: 616 m**

MES	T media	T med máx	T med mín	T máx	T mín	HR md
JUNIO	23,30	34,01	15,87	40,72	12,58	55,17
JULIO	24,80	34,89	17,80	41,33	12,92	65,27
AGOSTO	24,49	34,88	17,89	39,35	15,25	64,74
SEPTIEMBRE	18,73	25,30	14,66	37,70	9,73	79,73
OCTUBRE	16,52	22,78	13,00	27,53	8,22	80,23
NOVIEMBRE	13,10	17,19	9,97	23,67	3,25	62,91
DICIEMBRE	8,00	10,99	5,54	18,75	-2,98	78,90
ENERO	6,25	9,40	3,70	14,63	-2,33	75,50
FEBRERO	7,08	11,73	4,03	17,68	-2,10	73,56
MARZO	9,02	16,05	4,64	24,05	-3,15	64,30
ABRIL	12,55	20,54	7,48	29,64	2,82	71,52
MAYO	15,82	24,63	9,65	33,73	5,41	61,60

T media: temperatura media; T med máx: temperatura media de las máximas; T med mín: temperatura media de las mínimas; T máx: temperatura máxima; T mín: temperatura mínima; HR md: humedad relativa media. Periodo de observación: junio de 2009 a mayo de 2010

Tabla 39: Estación meteorológica Vistabella (40°15'N; 0°21'W).
Altitud: 1400 m

MES	T media	T máx	T mín	T MÁX	T MÍN	Pp	PE
ENERO	2.2	6.5	-2.1	13.4	-9.6	30.0	8.9
FEBRERO	2.0	6.0	-1.9	13.9	-9.6	41.0	7.9
MARZO	5.3	10.2	0.4	17.2	-6.1	54.0	26.7
ABRIL	7.1	11.9	2.3	17.5	-3.8	52.0	38.9
MAYO	10.9	16.0	5.7	22.2	0.1	67.0	67.4
JUNIO	13.7	18.9	8.5	25.2	3.6	66.0	85.9
JULIO	17.3	23.4	11.2	29.4	6.8	39.0	110.8
AGOSTO	16.8	22.7	10.9	28.3	6.1	42.0	99.9
SEPTIEMBRE	14.1	19.4	8.9	24.9	3.5	73.0	73.6
OCTUBRE	9.6	14,1	5.1	19.4	-1.4	121.0	45.8
NOVIEMBRE	5.3	9.8	0.8	15.5	-5.4	84.0	21.6
DICIEMBRE	3.0	7.2	-1.1	12.6	-8.8	79.0	11.7
ANUAL (T)	8.9	13.8	4.1	20.0	-2.1	748.0	599.2

Tmedia: temperatura media; T máx: temperatura media mensual de las máximas; T mín: temperatura media mensual de las mínimas; T MÁX: temperatura media mensual de las máximas absolutas; T MÍN: temperatura media mensual de las mínimas absolutas; Pp: precipitación media mensual; PE: evapotranspiración). Periodo de observación: 1951-1969.

Tabla 40: Estación meteorológica Segorbe (39°51'N; 0°29'W).
Altitud: 364 m

MES	T media	T máx	T min	T MÁX	T MÍN	Pp	PE
ENERO	8,1	12,5	3,7	19,9	-1,1	24	16,7
FEBRERO	9,7	14,7	4,8	22	-0,3	30	22,1
MARZO	12	17,3	6,6	24,4	1,6	31	38,7
ABRIL	13,9	19,3	8,4	26,2	4,2	41	52,8
MAYO	17	22,6	11,5	28,7	7,2	52	81,6
JUNIO	20,4	26,6	14,3	31,6	10	36	110,4
JULIO	23,7	29,9	17,6	35,1	14	17	142,9
AGOSTO	24,3	29,8	18,8	35,2	14,4	25	138,2
SEPTIEMBRE	21,2	26,5	15,9	31,4	11,7	50	97,7
OCTUBRE	16,3	20,8	11,9	27,4	7,4	90	59
NOVIEMBRE	12,2	16,6	7,9	22,3	2,9	57	32
DICIEMBRE	9	13,1	5	19,1	-0,4	53	19,1
ANUAL (T)	15,7	20,8	10,5	26,9	6	506	811,3

Tmedia: temperatura media; T máx: temperatura media mensual de las máximas; T mín: temperatura media mensual de las mínimas; T MÁX: temperatura media mensual de las máximas absolutas; T MÍN: temperatura media mensual de las mínimas absolutas; Pp: precipitación media mensual; PE: evapotranspiración). Periodo de observación: 1943-1969.

Tabla 41: Estación meteorológica Cullera (39°10'N; 0°15'W).
Altitud: 15 m

MES	T media	T máx	T mín	T MÁX	T MÍN	Pp	PE
ENERO	11,2	15,2	7,1	21,6	1,3	53	24,6
FEBRERO	10,8	15,7	6	21,8	0,2	41	22,8
MARZO	12,4	17,4	7,4	24,9	1,9	33	35,8
ABRIL	15	19,9	10,1	26,9	4,6	29	53,6
MAYO	18,2	22,9	13,4	29,3	10,1	43	84,7
JUNIO	21	25,5	16,6	30,3	12,1	33	110,2
JULIO	24,4	28,3	20,4	33,1	17,4	12	146,4
AGOSTO	25,2	29	21,4	34,6	16,7	30	145,2
SEPTIEMBRE	22,6	26,7	18,5	30,6	15,2	57	105,4
OCTUBRE	18,2	22,7	13,7	28	7,9	125	66,1
NOVIEMBRE	15,4	21,3	9,5	23,4	4,1	63	42,9
DICIEMBRE	11,8	17,2	6,3	19,7	0,9	57	26,1
ANUAL (T)	17,2	21,8	12,5	27	7,7	576	863,7

Tmedia: temperatura media; T máx: temperatura media mensual de las máximas; T mín: temperatura media mensual de las mínimas; T MÁX: temperatura media mensual de las máximas absolutas; T MÍN: temperatura media mensual de las mínimas absolutas; Pp: precipitación media mensual; PE: evapotranspiración). Periodo de observación: 1961-1970.

Tabla 42: Estación meteorológica Siete Aguas (39°28'N; 0°55'W).
Altitud: 697 m

	T media	T máx	T mín	T MÁX	T MÍN	Pp	PE
ENERO	5.2	9.8	0.6	16.5	-4.9	33.0	11.3
FEBRERO	6.9	11.7	2.0	18.7	-4.0	49.0	16.7
MARZO	9.6	15.1	4.0	23.2	-0.8	47.0	32.7
ABRIL	11.9	18.0	5.8	25.4	1.6	41.0	47.4
MAYO	15.3	21.8	8.8	28.9	4.1	53.0	75.9
JUNIO	19.5	26.5	12.6	32.3	9.0	31.0	108.1
JULIO	22.6	29.5	15.8	35.0	12.5	14.0	135.6
AGOSTO	22.8	29.3	16.3	34.7	12.7	24.0	128.6
SEPTIEMBRE	19.7	25.7	13.8	31.3	9.5	50.0	92.0
OCTUBRE	14.7	20.1	9.2	24.7	3.9	61.0	56.0
NOVIEMBRE	9.7	14.3	5.0	21.3	0.0	36.0	27.1
DICIEMBRE	6.2	10.2	2.3	15.8	-3.4	59.0	14.0
ANUAL (T)	13.7	19.3	8.0	25.7	3.4	498.0	745.4

Tmedia: temperatura media; T máx: temperatura media mensual de las máximas; T mín: temperatura media mensual de las mínimas; T MÁX: temperatura media mensual de las máximas absolutas; T MÍN: temperatura media mensual de las mínimas absolutas; Pp: precipitación media mensual; PE: evapotranspiración). Periodo de observación: 1941-1964.

**Tabla 43: Estación meteorológica Enguera (39°57'N; 0°54'W).
Altitud: 826 m**

	T media	T máx	T mín	T MÁX	T MÍN	Pp	PE
ENERO	7.6	10.9	4.4	17.6	-0.3	47.0	17.5
FEBRERO	8.3	12.1	4.6	18.2	-1.1	47.0	19.8
MARZO	10.2	14.4	6.1	20.0	1.5	47.0	19.8
ABRIL	12.0	16.4	7.6	21.2	3.6	59.0	45.1
MAYO	16.2	21.2	11.2	23.8	6.7	53.0	79.2
JUNIO	19.7	24.7	14.7	29.8	9.6	23.0	107.1
JULIO	23.1	29.0	17.3	33.0	13.6	5.0	138.2
AGOSTO	23.4	29.3	17.6	32.8	13.9	19.0	132.0
SEPTIEMBRE	20.0	24.9	15.2	29.3	11.4	24.0	91.9
OCTUBRE	15.1	19.1	11.2	22.8	6.5	88.0	55.6
NOVIEMBRE	11.1	14.7	7.6	19.1	3.4	47.0	30.6
DICIEMBRE	8.5	11.8	5.2	17.1	0.9	57.0	20.0
ANUAL (T)	14.6	19.0	10.2	23.7	5.8	516.0	770.0

Tmedia: temperatura media; **T máx:** temperatura media mensual de las máximas; **T mín:** temperatura media mensual de las mínimas; **T MÁX:** temperatura media mensual de las máximas absolutas; **T MÍN:** temperatura media mensual de las mínimas absolutas; **Pp:** precipitación media mensual; **PE:** evapotranspiración). Periodo de observación: 1948-1969.