

Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae

Antimicrobial effects of extracts from Chilean plants of Lauraceae and Atherospermataceae families

MSc. Marcia Avello Lorca, Carolina López Canales, Carlos Gatica Valenzuela, Evelyn Bustos Concha, Alejandra Brieva Chait, Dr. C. Edgar Pastene Navarrete, Dr. C. Magalis Bittner Berner

Universidad de Concepción. Concepción, Chile.

RESUMEN

Introducción: las familias Lauraceae y Atherospermataceae son fuentes importantes de aceites esenciales, en los que se ha observado actividad frente a microorganismos. Este estudio se realizó en las especies chilenas: *Cryptocarya alba* Looser (Peumo), *Persea lingue* (Ruiz & Pav.) Nees (Lingue) de la familia Lauraceae y *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. (laurel chileno) de la familia Atherospermataceae. De estas solo se conocen antecedentes morfológicos y usos populares, sin presentar estudios acabados sobre la composición química ni la actividad biológica.

Objetivo: evaluar la actividad de sus aceites esenciales frente a microorganismos y aportar antecedentes de su composición química.

Métodos: las muestras se recolectaron en la región del Bío-Bío. Se obtuvieron aceites esenciales por hidrodestilación. La caracterización química se realizó por CG-MS. La actividad antimicrobiana se evaluó a través de ensayos antifúngicos por el método de dilución en agar y difusión de vapor frente a *Penicillium* sp. y *Fusarium oxysporum*; los ensayos antibacterianos a través del método del pocillo y papel frente a *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Resultados: estos indican que los aceites esenciales de las 3 especies poseen un efecto selectivo frente a hongos y bacterias, lo cual sugiere que su naturaleza química diferente tendría un papel en el mecanismo de acción.

Conclusiones: se sugiere la continuación de estudios concentrando esfuerzos en el desarrollo de productos para el control de microorganismos que provocan pérdidas económicas y en la salud humana.

Palabras clave: Lauraceae, Atherospermataceae, especies chilenas, aceites esenciales, actividad antifúngica, actividad antibacteriana.

ABSTRACT

Introduction: the antimicrobial activity has been reported for the essential oils of some species in the families Lauraceae and Atherospermataceae. The present study was conducted with three Chilean species: *Cryptocarya alba* Looser (Peumo) and *Persea lingue* (Ruiz & Pav.) Nees (Lingue) from the family Lauraceae, and *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. (Chilean laurel) from the family Atherospermataceae. The morphological aspects and the popular uses of these species are the only known aspects. Thorough studies of their chemical composition and biological activity are lacking.

Objective: to evaluate the activity of the essential oils against microorganisms and to provide information on the chemical composition of these species.

Methods: samples were collected in the *Bío-Bío* Region and essential oils were obtained by steam distillation. Chemical characterization was done using GC-MS. Antimicrobial activity was evaluated against *Penicillium* sp. and *Fusarium oxysporum* through antifungal agar dilution and vapor diffusion assays. Antibacterial tests against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*, were carried out using agar disk and well diffusion assays.

Results: the results for the essential oils from the three species indicated selective activity against fungi and bacteria, suggesting that the different chemical features of these oils may play a role in their mechanisms of action.

Conclusions: further studies focusing efforts on developing products to control microorganisms that cause economic losses and affect human health.

Key words: Lauraceae, Atherospermataceae, Chilean species, essential oils, antifungal activity, antibacterial activity.

INTRODUCCIÓN

Las especies endémicas chilenas de la familia Lauraceae (*Persea lingue* [Ruiz & Pav.] Nees [Lingue] y *Cryptocarya alba* Looser [Peumo]) y de la familia Atherospermataceae (*Laurelia sempervirens* [R. et P.] Tul. [Laurel Chileno]), tienen escasos estudios fitoquímicos y biológicos, por lo que constituyen una fuente vegetal para la investigación. En medicina popular se utilizan las hojas de *Persea lingue* como astringentes y de *Cryptocarya alba* en enfermedades reumáticas y como rubefaciente. La corteza y las hojas se usan para enfermedades del hígado, hemorragias vaginales y para lavar heridas. *Laurelia sempervirens* se ha utilizado para tratar enfermedades venéreas y como expectorante.¹ Estas especies se distribuyen en el centro-sur de Chile.

Del estudio fitoquímico se sabe que la familia Lauraceae es una fuente importante de alcaloides cuaternarios del tipo bencilisoquinolinico, flavonoides y aceites esenciales con importante contenido en limoneno. Así también, para *Laurelia sempervirens*.¹

En especies con alto contenido de aceite esencial se ha observado actividad frente a inviabilidad a través del flujo de iones. Los aceites esenciales, además actúan como repelentes y disuasorios, afectan la producción de la hormona de muda juvenil, y son capaces de inhibir la síntesis de quitina, así como la función de enzimas a nivel digestivo del patógeno. Estas sustancias en definitiva son capaces de afectar el desarrollo o biología de los insectos y cumplen una función ecológica en defensa a las plantas del ataque de microorganismos, insectos y herbívoros, que logra un equilibrio entre especies de plantas e insectos.^{2,3}

La cuestionada seguridad de productos utilizados contra plagas, como los insecticidas convencionales, constituye una seria amenaza a la calidad de vida de la población. Esta situación hace importante la búsqueda de alternativas al control efectivo de plagas; productos eficientes, seguros, sin resistencia adquirida por parte de especies de hongos y bacterias al tratamiento con fungicidas, antibióticos e insecticidas convencionales, por lo que resulta una opción el estudio sustentable de especies nativas en modelos biológicos que describan su actividad frente a estos agentes.

Con la finalidad de estudiar el efecto de las especies *P. lingue*, *C. alba* y *L. sempervirens* sobre patógenos se obtuvieron aceites esenciales y se hicieron ensayos en distintos sistemas *in vitro*.

MÉTODOS

Material vegetal

Las hojas de *C. alba*, *P. lingue* y *L. sempervirens* se recolectaron en el bosque del Valle Nonguén (Región del Bío-Bío), en noviembre de 2009 por el Químico Farmacéutico Carlos Gatica Valenzuela. Luego de ser recolectadas fueron clasificadas con la asistencia del taxónomo doctor Roberto Rodríguez, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

Para la obtención de aceites esenciales se utilizaron las hojas frescas.

Obtención de los aceites esenciales

El método de obtención de los aceites esenciales se basa en la insolubilidad de estos compuestos en agua. Por esta razón, se obtuvieron mediante arrastre por vapor a partir de material vegetal fresco. Se utilizaron 3 kg de hojas de plantas y se obtuvieron aceites esenciales utilizando aparato *Clavenger*. Los rendimientos resultaron los siguientes: 0,76 % para *C. alba*; 0,50 % para *P. lingue* y 0,70 % para *L. sempervirens*.

Caracterización química de aceites esenciales

Los aceites esenciales obtenidos se trataron con sulfato de sodio para eliminar restos de agua o humedad, luego se caracterizaron químicamente mediante cromatografía de gases acoplada a detección de masas, en equipo de HPGC-MS (*Hewlett Packard*, series II 5890), usando una columna capilar de 30 m HP-5MS (5 % fenilmetilisiloxano); diámetro interno 0,25 mm, espesor de fase 0,25 μm . La fase móvil fue helio extra puro (grado 4,5 indura) con un flujo de 1 mL/min. El *split* utilizado fue de 1:20. Detector selectivo (*Hewlett Packard*, series I 5972) operado a 70 eV, con temperatura de 285 °C, temperatura del inyector de 250 °C; el horno sigue un programa para esencias, inicio con 60 °C por 2 min. Luego aumenta con una rampa de 10 °C/min hasta 210 °C por 5 min, en seguida sigue incrementando 10 °C/min hasta 260 °C por 10 min. Los componentes de los aceites esenciales se identificaron por comparación de sus tiempos de retención, patrones de fragmentación de masas, comparación con estándares, datos de literatura y la librería del equipo (NIST NBS54K). Los índices de retención de *Kovacs* (IR) se utilizaron para la asignación de los componentes; se compararon sus índices de retención lineal en una columna DB-5, relativos a los tiempos de retención de una serie de alcanos ($\text{C}_8\text{-C}_{28}$) y en condiciones cromatográficas idénticas a las del GC-MS (*gas chromatography- mass spectrometry*), pero con detección de ionización por llama.

Bioensayos

Actividad antifúngica

Se obtuvieron cultivos puros de las especies fúngicas de los géneros *Fusarium oxysporum* y *Penicillium* sp. que crecen frecuentemente sobre cereales o productos de cereales pertenecientes de la micoteca de hongos, del laboratorio de Química de Productos Naturales, perteneciente al Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción. Todos los trabajos de cultivo se ejecutaron en el Laboratorio Microbiológico de la Universidad de Concepción, bajo una campana de flujo laminar en condiciones asépticas y con materiales y herramientas esterilizadas. Los desechos, materiales contaminados y cultivos ya no usados, se esterilizaron de acuerdo a las normas de bioseguridad en una autoclave a 120 °C.

Las cepas fúngicas puras se multiplicaron y se utilizaron para los ensayos de exposición a los aceites esenciales, los cuales se realizaron de 3 formas:

1. Exposición en fase sólida (método de dilución en agar).

Para este ensayo se utilizó el medio de cultivo PDA (*potato dextrosa agar*), el cual luego de ser pasado por autoclave a 121 °C durante 15 min se dejó enfriar hasta una temperatura de 50 °C, y bajo cámara de flujo laminar horizontal se colocó en placa *Petri* 19 mL de medio de cultivo en espera de su gelificación; posteriormente, ayudado de una micropipeta se depositó 1 mL de aceite esencial en etanol puro, de tal manera que la concentración final de aceites esenciales en el medio de cultivo fuera 2 % (protocolo modificado según *Tullio* y otros).⁴ Se utilizó como control etanol puro y como control positivo ascaridol 2 % diluido en etanol. Cada placa se inoculó con un disco micelial de cada hongo, utilizando una pipeta *Pasteur* como sacabocado, previamente esterilizada. Las placas se cultivaron en una incubadora a 24 °C. El crecimiento micelial en cada placa fue observado durante un período de 7 d, con la medición del diámetro de crecimiento de la colonia.

2. Exposición en fase gaseosa (método de difusión de vapor).

En este ensayo se observó el efecto de los compuestos volátiles de cada aceite esencial sobre el crecimiento fúngico. Las placas se prepararon de la misma forma descrita en el ensayo (a), solo que en lugar de agregar el aceite esencial al medio de cultivo, se colocó una cantidad determinada (10 µL) de aceite puro y una dilución en dimetilsulfóxido (DMSO) 10 % sobre un disco de papel filtro esterilizado de 10 mm de diámetro; se colocó en cara inversa de la tapa de la placa de cultivo, utilizando una punta de espátula con vaselina para fijarla y evitar su caída al medio de cultivo. De esta forma, el micelio de cada especie fúngica fue expuesto a la fase volátil del aceite por medio de su evaporación, sin entrar en contacto directo con la sustancia. Como control se utilizó DMSO puro y de control positivo ascaridol 2 %.

3. Actividad antibacteriana.

Se ensayaron 2 cepas de bacterias grampositivas y 2 cepas gramnegativas. Para estos ensayos se utilizaron cepas bacterianas de origen ambiental, obtenidas del Laboratorio de Microbiología y Biorremediación del Departamento de Microbiología de la Universidad de Concepción; estas fueron *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, las cuales son cepas bacterianas que habitualmente se utilizan para determinar susceptibilidad antibacteriana.

La actividad antibacteriana de los aceites esenciales se determinó de acuerdo con la metodología descrita por Liu y otros,⁵ para esto, las cepas se incubaron durante 24 h a 37 °C. Se diluyeron para obtener una densidad celular aproximada de 1×10^7 ufc/mL y luego se sembraron por inclusión en agar tripticasa. En estos cultivos en agar, se construyeron pocillos de 5 mm de diámetro, en los cuales se depositaron alícuotas de 20 µL de aceites esenciales en DMSO. Los ensayos se incubaron a 37 °C y se observó la posible presencia de halos de inhibición a las 24 y 48 h de incubación. Como control se utilizó agua destilada y DMSO estéril, mientras que el aminoglucósido sulfato de estreptomicina (10 mg/mL) se utilizó como antibiótico control positivo. También se realizó un ensayo con discos de papel filtro (Whatman) de 5 mm de diámetro impregnados con los aceites esenciales en concentración de 100 µg de potencia por disco. Como controles se utilizaron agua, DMSO y sulfato de estreptomicina. Asimismo se realizó un ensayo con discos de papel filtro (Whatman) de 5 mm de diámetro impregnados con los aceites esenciales en concentración de 100 µg de potencia por disco. Los cultivos se incubaron a 37 °C. La actividad antibacteriana se evaluó por la presencia de un halo de inhibición del crecimiento bacteriano en torno al disco de papel filtro impregnado con el respectivo aceite.

RESULTADOS

Rendimientos de aceites esenciales

Los rendimientos resultaron los siguientes: *C. alba* 0,76 %; *P. linge* 0,50 % y *L. sempervirens* 0,70 %.

Caracterización química de aceites esenciales por CG-MS

El resumen se muestra en la tabla 1. Los compuestos mayoritarios para *C. alba* y *P. linge* resultaron 1-terpinen-4-ol (28,19 %) y safrol (48,50 %), respectivamente. *L. sempervirens* también mostró como compuesto mayoritario safrol (31,43 %).

Tabla 1. Compuestos mayoritarios identificados por CG-MS (*gas chromatography-mass spectrometry*) de aceites esenciales de aceites esenciales de *Cryptocarya alba*, *Persea linge* y *Laurelia sempervirens*

Especie	t _R	% área	IR	Compuesto	Identificación
<i>Cryptocarya alba</i>	4,71	11,05	932	α pineno	IR, MS, Co-I
	5,29	2,81	981	β-pineno	IR, MS, Co-I
	5,38	23,08	1 010	β-terpineno	IR, MS, Co-I
	6,24	15,99	1 024	cimol (p-cimeno)	IR, MS, Co-I
	6,33	18,90	1 034	eucaliptol	IR, MS, Co-I
	8,69	28,19	1 174	1-terpinen-4-ol	IR, MS, Co-I
<i>Persea linge</i>	6,25	13,25	1 034	eucaliptol	IR, MS, Co-I
	8,54	8,92	1 174	1-terpinen-4-ol	IR, MS, Co-I
	8,74	8,92	1 194	α-terpineol	IR, MS, Co-I
	10,15	48,50	1 276	safrol	IR, MS, Co-I
	25,87	20,42	3 500	pentatriacontano	IR, MS
<i>Laurelia sempervirens</i>	4,62	3,21	932	(1 <i>R</i>)-α-pineno	IR, MS
	4,72	27,91	932	(1 <i>S</i>)-α-pineno	IR, MS
	5,59	1,63	981	β-pineno	IR, MS, Co-I
	5,83	9,91	987	α-felandreno	IR, MS
	6,21	9,07	1024	Cimol (p-cimeno)	IR-MS, Co-I
	6,54	9,99	1 039	Z-ocimeno	IR, MS
	7,15	1,17	1 088	terpinoleno	IR, MS, Co-I
	8,77	2,93	1 194	α-terpineol	IR, MS, Co-I
	10,31	31,43	1 276	safrol	IR, MS, Co-I
	12,78	1,23	1 475	germacrene	IR, MS, Co-I
	13,96	1,53	1 570	espathulenol	IR, MS

IR: índice de retención de *Kovacs* en columna DB-5, MS: espectro de masas, Co-I: co-inyección con estándar, t_R: tiempo de retención.

Bioensayos

Actividad antifúngica

1. Exposición en fase sólida (dilución en agar).

Los resultados obtenidos para *C. alba* y *P. linge*, indican que *Penicillium* sp. presentó notorio cambio morfológico. Resultó interesante que como respuesta a la

exposición al aceite puro de ambas especies por el método dilución en agar, el hongo creó estructuras de resistencias conocidas como esclerocios, las cuales no son habituales para este género. Para la especie *Fusarium oxysporum* no se observó efecto a la exposición de los aceites esenciales de ambas especies. Para el caso de *Fusarium oxysporum* expuestos al aceite esencial 2 % de *Cryptocarya alba* se observó un cambio morfológico en el crecimiento del micelio, porque este en condiciones normales es esponjoso y el crecimiento observado es un micelio inmerso en el medio de cultivo. En el caso de *L. sempervirens* los resultados muestran que el crecimiento de *Penicillium* sp. fue afectado por el contacto directo con el aceite esencial 2 %. También *Fusarium oxysporum* se afectó en su crecimiento normal por el aceite esencial de *L. sempervirens* 2 % (tabla 2).

2. Exposición en fase de vapor (difusión en vapor).

Cuando los aceites de las 3 especies estudiadas se evaluaron mediante el método de difusión en vapor, no se observó actividad sobre *Penicillium* sp. y *Fusarium oxysporum* en ninguna de las concentraciones ensayadas (tabla 2).

Tabla 2. Ensayos antifúngicos para aceites esenciales de *Cryptocarya alba*, *Persea lingue* y *Laurelia sempervirens* por el método de dilución en agar (exposición en fase sólida)

	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>Cryptocarya alba</i>		
Control éter	Crecimiento normal	Crecimiento normal
Aceite puro	Crecimiento atípico	Crecimiento normal
Aceite 10 %	Crecimiento normal	Crecimiento normal
Aceite 2 %	Crecimiento normal	Crecimiento atípico
<i>Persea lingue</i>		
Control éter	Crecimiento normal	Crecimiento normal
Aceite puro	Crecimiento atípico	Crecimiento normal
Aceite 2 %	Crecimiento normal	Crecimiento normal
Aceite 10 %	Crecimiento normal	Crecimiento normal
<i>Laurelia sempervirens</i>		
Control éter	Crecimiento normal	Crecimiento normal
Aceite puro	Crecimiento atípico	Crecimiento atípico
Aceite 2 %	Crecimiento atípico	Crecimiento atípico

3. Actividad antibacteriana.

En los resultados para *C. alba* se observa actividad antibacteriana leve (diámetro de halo de inhibición de 6 a 9 mm) frente a *Staphylococcus aureus*, este resultado se observó por el método del pocillo. Para *P. lingue* se observa una actividad leve frente a todas las especies bacterianas estudiadas y con actividad moderada (diámetro de halo de inhibición de 10 a 14 mm) frente a *Pseudomonas aeruginosa* por el método del pocillo. En el caso de *L. sempervirens* también se observa actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*, pero leve (diámetro de halo de inhibición de 6 a 9 mm) por el método del papel (tabla 3).

Tabla 3. Ensayos antibacterianos para aceites esenciales de *Cryptocarya alba*, *Persea lingue* y *Laurelia sempervirens* por el método del pocillo y papel

Especie	Método	Pocillo				Papel			
		1	2	3	4	1	2	3	4
<i>Cryptocarya alba</i>	Cepas								
	Aceite esencial	-	-	-	-	+	-	-	-
	Control -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Control +	+++	+++	++++	++++	+	+++	+++	+++
<i>Persea lingue</i>	Aceite esencial	+	++	+	+	-	-	-	-
	Control -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Control +	+++	++	+++	++++	+++	-	++++	++++
	Aceite esencial	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Laurelia sempervirens</i>	Control -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Control +	+++	++	+++	++++	+++	-	++++	++++
	Aceite esencial	-	-	-	-	-	+	-	-
	Control -	-	-	-	-	-	-	-	-

DISCUSIÓN

Según el análisis cromatográfico por CG-MS se determinó la presencia de p-cimol y 1-terpinen-4-ol en aceite el esencial de *C. alba*, los cuales ya se encontraban descritos en la bibliografía.¹ Además, en este análisis se observó como compuestos mayoritarios aquellos pertenecientes a compuestos derivados de la biosíntesis del isopreno como son monoterpenos monocíclicos, en los cuales se destaca el α -pineno (11,05 %). Además se observó la presencia de hidrocarburos terpénicos y se destaca el 1-terpinen-4-ol (28,19 %), que ha sido reconocido como el compuesto mayoritario de esta especie, según estudios anteriores.¹ Con respecto a *P. lingue* y *L. sempervirens*, desde el punto de vista bibliográfico existen escasos antecedentes sobre la composición química de sus aceites esenciales, por lo tanto, estos datos constituyen un aporte al conocimiento de la flora chilena. En ambos casos, destaca la presencia de safrol como constituyente mayoritario. Nuestros resultados concuerdan con los reportados recién por Zapata y Smagghe,⁶ así como Zapata y otros,⁷ quienes estudiaron el efecto del aceite esencial de *L. sempervirens* y *Drymis winteri* sobre *Acyrtosiphon pisum* y *Tribolium castanum*, 2 tipos de plagas serias que atacan varias leguminosas y cereales, provocando importantes daños a sus cultivos. En el primer estudio, informaron alrededor de 17 compuestos en el aceite extraído desde la hoja de *L. sempervirens*, y solo 3 de ellos resultaron los mayoritarios: safrol (82,4 %), α -pineno (3,49 %) y limoneno (7,76 %). El elevado porcentaje de safrol reportado por Zapata y otros,⁶ según corresponde, contrasta con el de nuestro estudio (31,4 %). Además, el porcentaje de fellandreno (1,22 %) es inferior al reportado en el presente estudio (9,91 %), mientras que el p-cimeno y ocimeno (9,99 y 9,7 % este estudio), no fueron previamente detectados. Lo anterior sugiere que el aceite esencial de esta especie requiere mayores estudios, con el objeto de entender qué variables (suelo, clima, edad, procedimiento de destilación, y otros), definen cambios tan marcados en su composición.^{8,9}

Los efectos del aceite esencial puro de *C. alba* y *P. lingue*, en *Penicillium* sp. se manifestaron en un cambio morfológico observado en el crecimiento atípico del hongo, lo que podría considerarse como un efecto positivo, porque el hongo creó estructuras de resistencia llamadas esclerocios que no le son comunes en

condiciones normales.¹⁰ Estas mismas especies también provocaron cambios morfológicos en *Fusarium oxysporum* pero a una concentración de 2 %, efecto que puede estar relacionado con cierta afinidad de los compuestos de los aceites esenciales hacia las estructuras de resistencia fúngicas. El aceite esencial (2 %) de *L. sempervirens* presentó actividad antifúngica sobre *Penicillium* sp. y *Fusarium oxysporum*. Los posibles mecanismos de acción de los terpenos contenidos en los aceites esenciales puede deberse a su volatilidad y bajo peso molecular, de esta forma pueden atravesar estructuras de resistencia de la especie fúngica fácilmente. Así, tanto el daño a la membrana citoplasmática como una reducción en su contenido de ergosterol, promueven la formación de poros por los cuales difunden moléculas e iones (fundamentalmente K⁺ y H⁺), lo que finalmente compromete la viabilidad de la membrana. La depleción del ergosterol de la membrana fúngica, o la inhibición de sus síntesis, son mecanismos relevantes, puesto que este compuesto tiene una función estructural en el hongo. Con respecto a las concentraciones se observó mayor efectividad en los aceites esenciales de *C. alba*, *P. linge* y *L. sempervirens* frente a *Fusarium oxysporum* y a *Penicillium* sp. (solo *L. sempervirens*). Sin embargo, en todos los casos se observó crecimiento, aunque atípico.

Los métodos utilizados evidencian actividad de terpenos menos livianos, puesto que por el método de difusión en vapor no se observó influencia sobre los hongos ensayados. Así, los compuestos más volátiles vaporizados en el espacio cerrado de la placa de ensayo y por lo tanto en el medio de cultivo resultan muy bajos para conseguir un efecto sobre los hongos, a pesar que se utilizaron también aceites puros de las especies estudiadas. También pudo deberse a que esos aceites esenciales no poseen compuestos que controlen de manera efectiva el crecimiento de estos hongos por contacto indirecto.

Con respecto a la actividad antimicrobiana, en el caso de *C. alba* se puede observar que hubo un leve efecto del aceite esencial puro sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*, por el método del papel, lo que revela la naturaleza lipofílica de los componentes del aceite esencial y su poca difusión en el medio de cultivo, que resulta más compatible con el papel como dispositivo de transporte. Para el caso de *P. linge* se observó un efecto más importante, de leve a moderado, del aceite esencial sobre las cepas estudiadas, y resulta especialmente sensible *Pseudomonas aeruginosa*, por el método del pocillo. Esto evidencia mejor difusión del aceite en el pocillo en comparación al papel, el cual se ve influenciado por sus características de absorción, los que se unen a la membrana lipídica de la bacteria y aumentan su permeabilidad; esto produce movimiento de iones y finalmente ruptura celular, que afecta la viabilidad celular.

Con respecto a los mecanismos de defensa de las bacterias estudiadas, cabe destacar que la gramnegativa *Pseudomonas aeruginosa*, constituye un mayor desafío para un antibacteriano por las barreras estructurales de esta cepa.

La resistencia de las bacterias observada con todos los extractos podría radicar en su bajo peso molecular y la capacidad de atravesar las barreras estructurales propias de tales microorganismos, las que son diferentes a las fúngicas.

Para *L. sempervirens* se observa un leve efecto sobre el gramnegativo *Escherichia coli*. La actividad antimicrobiana de este aceite esencial se ha atribuido a la presencia de compuestos aromáticos. Pero el aceite esencial de *Laurelia sempervirens* no fue efectivo como se esperaba,¹ esto puede deberse a muchos factores que influyen en la composición de un aceite esencial, denominada quimiotipo. Entre ellos, los más importantes son el origen y el órgano de la planta, las condiciones climáticas y de crecimiento (temperatura, fertilizantes, tierra de

cultivo, etc.); también la forma de almacenamiento del aceite, que en este caso fue almacenado a bajas temperaturas en frasco ámbar cubierto con papel aluminio.¹¹ El safrol es el compuesto mayoritario en el aceite esencial de *L. sempervirens*, actúa inhibiendo la producción de enzimas intracelulares, como las amilasas y proteasas, lo que provoca el deterioro de la pared y un alto grado de lisis celular.¹² Algunos estudios demuestran también, que los componentes de menor proporción tienen un papel crítico en la actividad antimicrobiana, posiblemente debido a un efecto sinérgico entre ellos, de forma que el aceite esencial como complejo tiene una mayor actividad que la mezcla de sus principios activos mayoritarios.

La información recolectada en relación con la composición química de las especies estudiadas es un aporte al conocimiento de la biodiversidad química de las especies vegetales chilenas, así como a la actividad biológica de sus metabolitos. El impacto en la salud que provocan intoxicaciones con alimentos infectados con especies fúngicas y bacterias patógenas provoca estragos en la población. Por lo cual es imperioso realizar estudios acabados con recursos sustentables que constituyan una alternativa al uso de pesticidas y antibióticos, que cada vez desarrollan más resistencia por parte de los patógenos, además de pérdidas económicas en etapa poscosecha de granos. Una futura proyección sería concentrar esfuerzos en el desarrollo de productos para el control de microorganismos que provocan pérdidas económicas y en la salud humana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología. Santiago, Chile: Edit. Universitaria S.A.; 1999. p. 330.
2. Ave D, Gregoy Y, Tingey W. Aphid repellent sesquiterpenes in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* and *S. tuberosum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 1987;44(2):131-8.
3. Koul O, Shankar J, Kapil R. The effect of neem allelochemicals on nutritional physiology of larval *Spodoptera Litura*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 1996;79(1):43-58.
4. Tullio V, Nostro A, Madras N, Dugo P, Banche G, Cannatelli M, Cuffini A, Aonzo V, Carlone A. Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact method. *J Applied Microbiology*. 2007;102(6):1544-50.
5. Liu D, Kwasniewska K, Chau Y, Dutkta B. A four-hour agar plate for rapid toxicity assessment of water-soluble and water-insoluble chemical. *Environmental Toxicology and Water Quality*. 1991;6:437-44.
6. Zapata N, Smagghe G. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops Products*. 2010;32:405-10.
7. Zapata N, Lognay G, Smagghe G. Bioactivity of essential oils from leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Acyrtosiphon pisum*. *Pest Management Science*. 2010;66:1324-33.

8. Adams RP. Identification of essential oil component by gas chromatography/mass spectrometry. 4 ed. New York: Academic Press; 2007. p. 804.
9. Dorman H, Deans S. Antimicrobial agents from plants antibacterial activity of plant volatile oils. J Applied Microbiology. 2000;88(2):308-16.
10. Prange A, Modrow H, Hormes J, Kramer J, Kohler P. Influence of mycotoxin producing fungi (*Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*) on gluten proteins during suboptimal storage of wheat after harvest and competitive interactions between field and storage fungi. J Agricultural Food Chemistry. 2005;53(17):6930-8.
11. Baydar H, Sagdic O, Ozkan G, Karadogan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. Food Control. 2004;15:169-72.
12. Bittner M, Aguilera M, Hernández V, Arbert C, Becerra J, Casanueva M. Fungistatic activity of the essential oils from *Peumus boldus*, *Laureliopsis philippiana* and *Laurelia serpens* (Chilean Monimiaceae). Chilean J Agricultural Research. 2009;69(1):30-7.

Recibido: 5 de julio de 2011.

Aprobado: 20 de noviembre de 2011.

Marcia Avello Lorca. Casilla 237. FONONO: 56-041-2204523; Fax: 56-041-2207086. Concepción, Chile. Correo electrónico: maavello@udec.cl