

# Efecto de la fertilización nitrogenada en el rendimiento y la composición de los aceites esenciales de especies y accesiones de *Lippia*

## Effect of nitrogen fertilization on essential oil yield and composition in different species and accessions of *Lippia*

Érika Leonor Zambrano M.<sup>1</sup>, Luz Ángela Buitrago F.<sup>1</sup>, Leila A. Durán G<sup>2</sup>, Manuel Salvador Sánchez O.<sup>2</sup>, Carmen Rosa Bonilla C.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Autor para Correspondencia: crbonillac@unal.edu.co

Rec.: 26.11.12 Acep.:22.11.13

### Resumen

En el Centro Experimental de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira (CEUNP) se evaluó el efecto de la aplicación de nitrógeno (N) en la producción de materia seca y aceites esenciales de dos especies de *Lippia*. Se utilizaron las accesiones Cítrica y Típica de *Lippia alba* (Miller) N.E.Brown ex Britton & Wilson y Patía, Típica y Cítrica de *L. origanoides* H.B.K. Como fuentes de N se aplicaron gallinaza y urea en dosis equivalentes de 50 y 100 kg/ha de N. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar, con cinco tratamientos y tres repeticiones para cada accesión. Se evaluaron los rendimientos de biomasa fresca y seca (MS) y de los aceites esenciales y su composición por arrastre de vapor en hojas secas. Los mayores rendimientos de MS y de aceite esencial (3.318 kg/ha y 82.9 lt/ha, respectivamente) se obtuvieron con las accesiones de *L. origanoides*. La mayor concentración de aceite esencial (4 ml/100 g) se registró en *L. origanoides* Patía con la aplicación de 100 kg/ha de N como urea. Las diferencias en la composición química de los aceites estuvieron más asociadas con la especie y accesión que con la aplicación de N.

**Palabras clave:** Accesiones, aceites esenciales, calidad, fertilización, *Lippia* spp.

### Abstract

Some species of *Lippia* genus have acquired importance due to its potential to yield essential oils with multiple uses and therefore requires research aspects related to the crop managing. In experiments conducted at the Experimental Center of Universidad Nacional de Colombia, Palmira (CEUNP), the effect of two sources of Nitrogen fertilization (hen manure and urea (50 and 100 kg of N/ha), two accessions of *Lippia alba* (Cítrica and Típica) and three of *Lippia origanoides* (Patía, Típica and Cítrica) were evaluated. A randomized complete block experimental design with five treatments and three repetitions was used. Yield of fresh and dried biomass, water vapor extraction of the essential oils was assessed and chemical composition of essential oils were made. The highest dry matter yield and essential oils obtained (3.382 kg/ha. and 82,9 l/ha respectively) were for *L. origanoides* accessions. The highest essential oil concentration (4,0 ml/100g) was obtained from *L. origanoides* Patía treated with 100 kg of N (urea)/ha. There was not significant differences ( $p < 0.05$ ) in chemical composition of the essential oils and the chemical differences founded between the essential oils were more associated to specific accessions than to the nitrogen supply.

**Key words:** Accessions, concentration, essential oils, fertilization, *Lippia* sp.

## Introducción

Colombia, al igual que varias regiones tropicales y subtropicales, tiene una abundante experiencia ancestral en el manejo de problemas de la salud mediante la utilización de plantas medicinales de la biodiversidad, que constituyen el recurso más importante y a veces el único accesible para muchas comunidades. Actualmente, las presiones sociales hacia lo natural y orgánico han estimulado y aumentado el interés de las industrias que utilizan alternativas de la biodiversidad como fuentes primarias para fabricar alimentos, aromáticas, cosméticos, agrobiológicos y fitofármacos, entre otros (Katewa *et al.*, 2004).

El género *Lippia* (Verbenaceae) incluye aproximadamente 200 especies de hierbas y arbustos, distribuidas en varios países de América Central y del Sur, destacándose por su alta diversidad botánica, abundancia y amplia distribución y variedad de usos (Verdcourt, 1992). Muchas de ellas se utilizan tradicionalmente en tratamientos de afecciones gastrointestinales y respiratorias y como condimentos en la preparación de alimentos (Pascual *et al.*, 2001).

*Lippia alba* (Miller) N.E. Brown ex Britton & Wilson, conocida también por su nombre popular 'prontoalivio', es nativa de América donde se encuentra ampliamente distribuida y adaptada a diferentes climas (Cáceres, 1996; García, 1992; Gupta, 1995). Es un arbusto o subarbusto que se caracteriza por su aroma intenso y su contenido de aceites esenciales (0.2 a 0.6%) en base fresca (Mejía *et al.*, 2007); además se distingue por su alto contenido de carvona, compuesto de amplio uso en las industrias cosmética, de alimentos y farmacéutica (Hernández *et al.*, 2004).

*Lippia origanoides* H.B.K. conocido como 'orégano de monte' es un arbusto silvestre del nordeste de Suramérica y algunos países de Centroamérica y las Antillas. En Colombia se encuentra en los departamentos de Guajira, Magdalena, Cauca, Cundinamarca, Norte de Santander y Santander (Vicuña *et al.*, 2010). Sus hojas en infusión se utilizan como expectorante y para tratar afecciones bronquiales y pulmonares; además del asma, la tos y los espasmos (García, 1992). Debido al alto contenido de carvacrol y timol, el aceite esencial de

esta especie presenta actividades antivirales (Meneses *et al.*, 2009), antifúngicas y bactericidas (Duarte *et al.*, 2005).

El contenido y la composición química de los aceites esenciales es variable y depende de múltiples factores genéticos y de las condiciones agroecológicas de los sitios de producción, el manejo del cultivo, los métodos de extracción, el estado fenológico, la parte del tejido y la procedencia de la planta (Sangwan *et al.*, 2011). Estudios realizados para evaluar la composición de los aceites esenciales en varias localidades de Brasil y Colombia sugieren la existencia de varios quimiotipos tanto en *L. origanoides* como en *L. alba* (Matos *et al.*, 1996).

Las aplicaciones de fertilizantes, especialmente los nitrogenados, afectan los rendimientos de aceites esenciales mediante el incremento de la producción de biomasa total por unidad de área ya que la respuesta definitiva está asociada a múltiples y complejas interacciones (Peporine *et al.*, 1997; Sangwan *et al.*, 2001). El propósito del presente estudio fue evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada en el rendimiento de biomasa y la composición de los aceites esenciales en accesiones de *L. alba*. (Miller) N.E. Brown ex Britton & Wilson y *L. origanoides* H.B.K.

## Materiales y métodos

El trabajo de campo se realizó en un suelo franco-arcilloso, con pH 7.4 y contenido alto o adecuado de nutrientes del Centro Experimental de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira (CEUNP), localizado en el municipio de Candelaria (2° 26' N y 76° 05' O), vereda El Carmelo, departamento del Valle del Cauca, a 927 m.s.n.m.. La temperatura promedio es de 24°C, la humedad relativa de 65% y la precipitación, promedio anual, de 1100 mm. Se utilizaron plantas madres sanas de la colección de trabajo del grupo de investigación en Plantas Medicinales, Aromáticas y Condimentarias. Las plantas madres de *L. origanoides* Típica fueron recolectadas originalmente en el Cañón de Chicamocha, las de Cítrica en el Cañón del Chicamocha y Jordán Sube, y las de la accesión Patía en El Bordo, Cauca. La accesión Típica de *L. alba* fue recolectada en Puerto López (Llanos Orientales de Colombia) y la Cítrica en Palmi-

ra, Valle del Cauca. Se plantaron esquejes de tamaños entre 12 y 15 cm, con 3 - 5 nudos, obtenidos del tercio medio y enraizados bajo sombra en recipientes plásticos de 7 onzas en un sustrato suelo-arena (1:1), impregnados previamente con cristales de *Aloe vera* L. (sábila) como estimulante enraizador. Veintiocho días luego de la siembra se trasplantaron 20 esquejes enraizados a una distancia entre plantas de 0.50 m y 0.75 m entre surcos en parcelas de 6 m<sup>2</sup>; en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Catorce días después del trasplante en campo se aplicaron cuatro tratamientos de fertilización, equivalentes a 50 y 100 kg/ha de N, en forma de urea (46% N) y gallinaza (2% N), más un tratamiento control sin fertilización. La cosecha manual de las hojas se hizo en tres plantas, 8 semanas después del trasplante. El secado de éstas se realizó en bandejas a 33 °C hasta alcanzar un contenido de humedad promedio de 12%.

La extracción de los aceites de las hojas se hizo por arrastre con vapor introduciendo 100 g de material seco en el equipo de extracción tipo Clevenger. En el proceso se obtuvo como resultado aceite esencial y agua, que fueron separados utilizando éter etílico y sulfato de sodio anhidro. Una vez se determinó la concentración de aceites, se estimaron los rendimientos de aceite esenciales por hectárea en cada uno de los tratamientos. Estos aceites fueron almacenados a temperatura de 5 °C - 10°C, aproximadamente, protegiéndolos de la incidencia directa de los rayos de luz. La fracción de aceite esencial de cada tratamiento se determinó en los laboratorios de la Universidad Industrial de Santander (UIS) por cromatografía gaseosa acoplada a masas, una vez que las muestras fueron preparadas mediante dilución e inyección directa de los aceites esenciales al equipo cromatográfico. Se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 6890 Plus acoplado a un detector selectivo de masas (MSD, Agilent Technologies 5973) operado en modo de barrido completo de radiofrecuencias (full scan). La columna empleada en el análisis fue DB-5MS (J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) (5%-fenil-poli(dimetilsiloxano), 60 m X 0,25 mm X 0,25 µm). La inyección se realizó en modo split (5:1), volumen de inyección

de 2 µl. Los datos fueron analizados con el software Statistical Analysis System (SAS versión 9.2 de 2007) utilizando la prueba de rango múltiple de Duncan para establecer comparaciones entre tratamientos.

## Resultados y discusión

### Rendimiento de materia seca

Las accesiones de *L. origanoides* presentaron el mayor rendimiento promedio (3.32 t/ha) de materia seca ( $P < 0.05$ ), entre ellas sobresalió la accesión Cítrica por su alto rendimiento (3.83 t/ha). Este resultado es debido a que esta especie se caracteriza por plantas de mayor altura y número de ramificaciones y mayor área foliar que *L. alba*, un arbusto de crecimiento inicial postrado y que puede alcanzar hasta 1.20 m (Leigh y Walton, 2004).

La aplicación de 100 kg/ha de N como urea incrementó ( $P < 0.05$ ) los rendimientos de materia seca en las accesiones de *L. origanoides*. Las accesiones de *L. alba*, por el contrario, no respondieron en forma significativa a la aplicación de esta dosis de N, resultado que coincide con los hallazgos de Hernández *et al.* (2004) (Cuadro 1).

### Concentración y rendimientos de aceites esenciales en hojas

La concentración promedio de aceites en hojas no varió ( $P > 0.05$ ) entre las especies, niveles y fuentes de nitrógeno evaluados; aunque las accesiones de *L. origanoides* presentaron mayor concentración que las de *L. alba*, sobresaliendo la accesión Patía (Cuadro 2). Estos resultados concuerdan con los encontrados por Baranauskienė *et al.* (2003), Prakasa *et al.* (1985) y Azizi *et al.* (2009) en *Thymus* spp., *Cymbopogon* spp. y *Origanum vulgare* en los que encontraron efecto de los fertilizantes nitrogenados en el rendimiento de la materia seca, pero no en el rendimiento y composición de los aceites esenciales.

El rendimiento de aceites esenciales presentó diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) entre especies. Las accesiones Patía y Cítrica de *L. origanoides* rindieron 83% más aceite que las accesiones de *L. alba*. En este caso, al igual que para la MS, los mayores rendimientos se obtuvieron con la aplicación

**Cuadro 1.** Efecto de la aplicación de fuentes y dosis de nitrógeno en el rendimiento de materia seca (t/ha) de accesiones de *Lippia alba* y *L. origanoides*.

Especie/accesión	Testigo	Fuentes de N						Promedio	
		Urea (kg/ha)			Orgánico <sup>a</sup> (kg/ha)			accesión	especie
		0	50	100	Prom.	50	100		
Rendimiento (MS, t/ha)									
<b>L. alba:</b>									
Citrica	1.84	2.22	2.51	2.36	2.10	2.13	2.11	2.16 d	
Típica	1.38	2.03	1.83	1.93	1.41	1.82	1.62	1.69 e	
Prom.	1.61	2.12	2.17	2.15	1.75	1.98	1.86		1.93 b
<b>L. origanoides:</b>									
Patía	4.07	2.31	3.75	3.03	2.98	3.70	3.34	3.36 b	
Típica	2.75	3.32	2.49	2.90	2.76	2.48	2.62	2.76 c	
Cítrica	2.72	4.50	4.98	4.74.5	3.09	3.82	3.45	3.82 a	
Prom. (accesiones)	3.18	3.37	3.74	3.56	2.94	3.33	3.14		3.31 a
Prom (especies).	2.39 b*	2.55 c	2.81 a	2.85 a	–	–	2.50 b		

\* Promedios en una misma fila para fuentes de N y en una misma columna para especies seguidos de letras iguales no difieren en forma significativa ( $P > 0.05$ ) según la prueba de Duncan.

a. Fuente: gallinaza.

**Cuadro 2.** Efecto de la aplicación de fuentes y dosis de nitrógeno en la concentración de aceites esenciales (%) de accesiones de *Lippia alba* y *L. origanoides*.

Especie/accesión	Testigo	Fuentes de N						Promedio	
		Urea (kg/ha)			Orgánico <sup>a</sup> (kg/ha)			accesión	especie
		0	50	100	Prom.	50	100		
Concentración (%)									
<b>L. alba</b>									
Cítrica	2.667	2.889	2.667	2.778	2.667	2.333	2.500	2.644 ab	
Típica	1.923	1.833	2.167	2.000	2.000	1.833	1.916	1.951 c	
Prom.	2.295	2.361	2.417	2.389	2.333	2.083	2.208		2.297 a*
<b>L. origanoides</b>									
Patía	2.333	2.500	4.000	3.250	3.167	2.667	2.917	2.933 a	
Típica	3.500	1.500	1.500	1.500	1.958	1.333	1.645	1.958 c	
Cítrica	2.000	3.333	2.000	2.666	2.500	2.458	2.479	2.458 b	
Prom. (accesiones)	2.611	2.444	2.500	2.472	2.542	2.153	2.347		2.449 a
Prom. (especies)	2.453	2.420	2.288	2.430			2.277 a		

\* Promedios en una misma fila para fuentes de N y en una misma columna para especies seguidos de letras iguales no difieren en forma significativa ( $P > 0.05$ ) según la prueba de Duncan.

a. Fuente: gallinaza.

de urea, lo que concuerda con los resultados obtenidos con *L. alba* por Hernández *et al.* (2004) y Mejía *et al.* (2007), y por Bommegowda *et al.* (1981) con cultivares de *Cymbopogon*. Los niveles de nitrógeno aplicados no afectaron el rendimiento de los aceites esenciales, debido, posiblemente, a las condiciones naturales de alta fertilidad del suelo (Cuadro 3).

### Composición química

No se encontraron diferencias ( $P > 0.05$ ) en la composición química de los aceites esenciales debidas a las fuentes y niveles de nitrógeno aplicadas. Las diferencias observadas en

composición química de estos aceites estuvieron asociadas con las especies y con las accesiones dentro de éstas. En la accesión cítrica de *L. alba* los componentes predominantes fueron el geranial (50.1%) y el neral (32.1%) (Cuadro 4), mientras que el carvona (47.4%) y el limoneno (36%) predominaron en la accesión Típica (Cuadro 5); resultados que concuerdan con los encontrados por Mejía *et al.* (2007). El timol fue el compuesto predominante en las accesiones Patía (87.5%), Típica (80.7%) y Cítrica (85.7) de *L. origanoides* (Cuadro 6). Estos resultados están de acuerdo con los hallazgos en estudios previos sobre la composición del aceite esencial de *L.*

**Cuadro 3.** Efecto de la aplicación de fuentes y dosis de nitrógeno en el rendimiento de aceites esenciales (lt/ha) de accesiones de *Lippia alba* y *L. organoides*.

Especie/accesión	Testigo	Fuentes de N						Promedio	
		Urea (kg/ha)			Orgánico <sup>a</sup> (kg/ha)			accesión	especie
		0	50	100	Prom.	50	100		
Rendimiento (lt/ha)									
<b><i>L. alba</i></b>									
Cítrica	49.2	64.2	67.0	65.6	56.1	49.9	53.0	57.3 b	–
Típica	26.6	37.3	39.7	38.5	28.2	33.5	30.9	33.1 c	–
Prom.	37.9	50.8	53.4	52.1	42.2	41.7	41.9	–	45.2 b*
<b><i>L. origanoides</i></b>									
Patía	95.1	57.8	150.1	104.0	94.7	98.9	96.8	99.3 a	–
Típica	96.6	49.8	37.4	43.6	54.1	33.1	43.6	54.2 b	–
Cítrica	54.5	150.1	99.7	124.9	77.3	94.0	85.7	95.1 a	–
Prom. (accesiones)	82.1	85.9	95.7	90.8	75.4	75.3	75.4	–	82.9 a
Prom. (especies)	60.0	63.6	66.5		71.4 a			58.6 b	

\* Promedios en una misma fila para fuentes de N y en una misma columna para especies seguidos de letras iguales no difieren en forma significativa ( $P > 0.05$ ) según la prueba de Duncan.

a. Fuente: gallinaza.

**Cuadro 4.** Concentración relativa (%) de los compuestos presentes en la accesión Cítrica de *Lippia alba*.

Compuesto	Concentración (%)
Geranial	50.1
Neral	32.1
Geraniol	7.6
Acetato de geranilo	1.9
<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	1.5
Germacreno D	1.1
(E)-Isocitral	1.1
Nerol	0.8
$\alpha$ -(Z)-Bisaboleno	0.8
Monoterpeno oxigenado, C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.7
Oxido de cariofileno	0.6
Linalol	0.6
Citronelal	0.6
$\beta$ -Elemeno	0.5

\*Análisis realizado por la Universidad Industrial de Santander, 2009.

**Cuadro 5.** Concentración relativa (%) de los compuestos presentes en la accesión Típica de *Lippia alba*

Compuesto	Concentración (%)	Compuesto	Concentración (%)
Carvona	47.4	9- <i>epi</i> -(E)-Cariofileno	0.3
Limoneno	36.0	Borneol	0.3
Germacreno-D	8.3	Linalol	0.3
Piperitenona	1.2	$\beta$ -Mirceno	0.3
Piperitona	1.1	<i>trans</i> -Carveol	0.2
Sesquiterpeno oxigenado, C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.6	<i>cis</i> - Carveol	0.2
Biciclogermacreno	0.5	$\beta$ -Copaeno	0.2
<i>trans</i> - $\beta$ -Farneseno	0.5	Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1- $\alpha$ -ol	0.1
$\beta$ -Elemeno	0.5	$\beta$ -Ylangeno*	0.1
$\beta$ -Bourboneno	0.5	<i>trans</i> - Dihidrocarvona	0.1
<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimeno	0.4	<i>cis</i> -Dihidrocarvona	0.1
<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	0.4	Canfeno	0.1
Germacreno D-4-ol + Espatulenol	0.3	$\alpha$ -Pinenol	<0.1

Análisis realizado en laboratorios de la Universidad Industrial de Santander, 2009.

\*Identificación tentativa.

**Cuadro 6.** Concentración relativa (%) de los compuestos presentes en accesiones de *Lippia origanoides*.

Compuesto	Accesiones		
	Patía	Típica	Cítrica
Timol	87.5	80.7	85.7
<i>p</i> -Cimeno	4.4	5.2	4
<i>y</i> -Terpineno	2.8	5.3	3.3
<i>trans</i> -β-Cariofileno	1.0	1.2	1.0
β-Mirceno	1.0	1.4	1.0
α-Terpineno	0.6	1.1	0.7
α-Humuleno	0.6	0.6	0.5
Terpinen-4-ol	0.3	0.4	0.4
Timol metiléter	0.3	1	1
N.I. Compuesto oxigenado (m/z 180) <sup>a</sup>	0.2	0.2	0.3
β-Bisaboleno	0.2	0.2	0.1
Acetato de timilo	0.2	0.5	0.6
Umbellulona	0.2	0.1	0.2
<i>Cis</i> -Hidrato de sabineno	0.2	0.2	0.1
Limoneno	0.2	0.2	0.2
α-Tuyeno	0.1	0.3	0.1
β-Felandreno	0.1	0.1	0.1
Eucaliptol	0.1	0.4	0.1
<i>trans</i> -β-Ocimeno	0.1	0.2	0.1
Oxido de cariofileno	0.1	0.1	0.1
α-Pineno	<0.1	0.1	<0.1
α-Felandreno	<0.1	0.2	<0.1
<i>cis</i> -α-Bergamoteno	<0.1	0.4	0.3
11-α-H-Himalacha-1-4-dieno*			0.1

Análisis realizado en laboratorios de la Universidad Industrial de Santander, 2009.

\*Identificación tentativa.

a. N.I. = No identificado.

*origanoides* cultivada en los estados de Pará y Minas Gerais (Brasil) (Gallino, 1987) y con estudios realizados en Colombia por Ruiz *et al.* (2007) quienes encontraron concentraciones de timol variables entre 33.9 y 77.7%, dependiendo del método de extracción.

### Conclusiones

- En condiciones del Valle del Cauca, las accesiones de *L. origanoides* presentaron mayor rendimiento de materia seca que las de *L. alba*.
- La aplicación de 100 kg/ha de N en forma de urea, incrementó el rendimiento de materia seca en las accesiones de ambas especies, no obstante la mayor respuesta se observó en las de *L. origanoides*.
- Las mayores concentraciones de aceites esenciales en hojas se presentaron en las accesiones de *L. origanoides* y no fueron afectadas por la dosis de nitrógeno ni por las fuentes utilizadas.

- Los mayores rendimientos de aceites esenciales se obtuvieron en las accesiones de *L. origanoides* y con la aplicación de 100 kg/ha de nitrógeno como urea, lo que concuerda con el mayor rendimiento de materia seca de las accesiones de esta especie.
- La composición química de los aceites esenciales probablemente está asociada con la especie y las accesiones.
- En la composición de los aceites esenciales de la accesión Cítrica de *L. alba* predominan el geranial y el neral; en la accesión Típica la carvona y el limoneno; y en las accesiones de *L. origanoides* el timol.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a la División de Investigaciones – DIPAL y al Programa de Plantas Medicinales de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira por el apoyo y la financiación del presente trabajo de investigación.

## Referencias

- Azizi, A.; Yan, F.; y Honermeier, B. 2009. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Crops Prod.* 29(2):554 - 561..
- Baranauskienė, R.; Rimantas, V.P.; Viškelis, P.; y Dambrauskienė, E. 2003. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of Thyme (*Thymus vulgaris*). *J. Agric. Food Chem* 51(26):7751 - 7758.
- Bommegowda, A.; Narayana, M. R.; y Krishnamoorthy, K. 1981. Nitrogen fertilizer use in Java citronella. *J. Agric. Sci.* 15:60 - 62.
- Cáceres, A. 1996. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala. ed. Universitaria. Colección monografías. vol. 1. 402 p.
- Duarte M. C.; Figueira, G. M.; y Sartoratto, A. 2005. Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. *J. Ethnophar.* 97:305 - 311.
- García, B. H. 1992. Flora medicinal de Colombia: Botánica médica. Tomo II. Bogotá D.C.: Tercer mundo ed. 537 p.
- Gallino, M. A. 1987. Una Verbenacea essenziera ricca in timolo: *Lippia organoides* H.B.K. *Essenze Derivati Agrumari* 57(4):628 - 629.
- Gupta, M. 1995. 270 Plantas medicinales iberoamericanas: Convenio Andres Bello. Bogotá D.C.: Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED. 617 p.
- Hernández, H.; Bonilla, C. R.; y Sánchez, O. M. 2004. Efecto de la fertilización nitrogenada en la producción y calidad de *Lippia alba* (Miller) N.E. Brown ex Britton & Wilson, 'prontoalivio'. *Acta Agronómica* 53(1-2):45 - 52.
- Katewa, S.; Chaudhary, B.; Jain, A. 2004. Folk herbal medicines from tribal area of Rajasthan, India. *J. Ethnophar.* 92:41 - 46.
- Leigh, C. y Walton, C. S. 2004. *Lippia* pest status review series - land protection *Lippia* (*Phyla canescens*) in Queensland. Department of Natural Resources, Mines and Energy. 34 p.
- Matos, F. J.; Machado, M. I.; Craveiro, A. A.; y Alentar, J. W. 1996. The essential oil composition of two chemotypes of *Lippia alba* grown in Northeast Brazil. *J. Essential Oil Res.* 8:695 - 698.
- Mejía, O.; Julio, M.; Sánchez, O. M.; Bonilla, C. C.; y Vanegas, M. P. 2007. Efecto de la altura y frecuencia de corte y secado en el rendimiento y calidad del aceite esencial de pronto alivio. *Scientia et Technica* 13(33):253 - 255.
- Meneses, R.; Ocazonez, R. E.; Martínez J. R.; y Stashenko, E. 2009. Inhibitory effect of essential oils obtained from plants grown in Colombia on yellow fever virus replication *in vitro*. *Ann. Clinical Microb. Antimicrob.* 8:8.
- Pascual, M. E.; Slowing, K.; Carretero, E.; Sanchez, M. D.; y Villar, A. 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *J. Ethnopharm.* 76:201 - 214.
- Pepporine, N.; Kato, M. J.; De Aguiar, E. H.; Soares, J. G.; y Yoshida, M. 1997. Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Viola surinamensis* leaves. *Phytochem.* 46(4):689 - 693.
- Prakasa, R. E.; Singh, R. M.; Rao, G.; y Ramesh, S. 1985. Effect of urea and neem cake coated urea on yield, and concentration and quality of essential oil in Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). *J. Agric. Sci.* 104:477 - 479.
- Ruiz, C.; Tunarosa, F.; Martínez, J.; y Stashenko, E. 2007. Estudio comparativo por GC-MS de metabolitos secundarios volátiles de dos accesiones de *Lippia organoides* H.B.K., obtenidos por diferentes técnicas de extracción. *Scientia et Técnica.* 13(33):325 - 328.
- Sangwan, N. S.; Farooqi, A. H.; Shabih, A. F.; y Sangwan, R. S. 2001. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation* 34:3 - 21.
- SAS Institute Inc. 2007. SAS OnlineDoc® 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc. SAS OnlineDoc® 9.2.
- Verdcourt, B. 1992. Flora of tropical East Africa: Verbenaceae. Rotterdam: Balkema 155 p.
- Vicuña, G. C.; Stashenko, E. E.; y Fuentes, J. L. 2010. Chemical composition of the *Lippia organoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. *Fitoterapia* 81(5):343 - 349.