

Artículo Original / Original Article

## Caracterización *in situ* de poblaciones de *Aloysia gratissima* var. *gratissima* recolectadas del noreste de la provincia de San Luis, Argentina

[*In situ* characterization of populations of *Aloysia gratissima* var. *gratissima* collected from the northeast of the province of San Luis, Argentina]

Oscar A. Risso<sup>1</sup>, Ariana Posadaz<sup>2</sup>, Myriam Leal<sup>2</sup>, Carlos Ardanáz<sup>3</sup>, Susana A. Suárez<sup>4</sup> y Marta S. Ojeda<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Agencia de Extensión Rural Concarán, Estación Experimental Agropecuaria San Luis, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Concarán, Argentina

<sup>2</sup>Facultad de Turismo y Urbanismo. Universidad Nacional de San Luis, Villa de Merlo, Argentina

<sup>3</sup>Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. San Luis Capital, Argentina

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Físico, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina

<sup>5</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba Capital, Argentina

### Reviewed by:

Paula Brunetti  
Universidad Nacional de Córdoba  
Argentina

Beatriz Varela  
Universidad de Buenos Aires  
Argentina

### Correspondence:

Oscar A. RISSO:  
[risso.oscar@inta.gob.ar](mailto:risso.oscar@inta.gob.ar)

**Section:** Analytical techniques

Received: 14 July 2020

Accepted: 19 December 2020

Accepted corrected: 10 January 2021

Published: 30 July 2022

### Citation:

Risso OA, Posadaz A, Leal M, Ardanáz C, Suárez SA, Ojeda MS. Caracterización *in situ* de poblaciones de *Aloysia gratissima* var. *gratissima* recolectadas del noreste de la provincia de San Luis, Argentina. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 21 (4): 431 - 445 (2022). <https://doi.org/10.37360/blacpma.22.21.4.26>

**Abstract:** The aerial part of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook. ex Hook.) Tronc., "Usillo", is used as aromatic and medicinal. It is a shrub of up to 3 meters, distributed in North America, from the south of the USA to the north of Mexico, and in South America up to the 37th parallel. As in other native species, the demand is covered by harvesting in wild populations, which brings about the deterioration of the resource and lack of homogeneity of the harvested product. The variability was characterized in nine populations of *A. gratissima* var. *gratissima* from the northeast of San Luis, Argentina, based on morphological and phytochemical characters. It was found that the species in the region presents considerable heterogeneity. Diversity was detected in the chemical characteristics of the essential oils analyzed and the prevalence of mono and sesquiterpenes was related to the olfactory identities identified. The main components were the sesquiterpene spatulenol and the monoterpene 1,8 cineole.

**Keywords:** *Aloysia gratissima*; Native population; Phenotypic variability; Essential oil; Morphological characters.

**Resumen:** La parte aérea de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook. ex Hook.) Tronc., "usillo", es utilizada como aromática y medicinal. Es un arbusto de hasta 3 metros, distribuido en Norteamérica, desde el sur de EEUU hasta el norte de México, y en Sudamérica hasta el paralelo 37°. Al igual que en otras especies nativas, la demanda es cubierta por recolección en poblaciones silvestres, lo cual trae aparejado el deterioro del recurso y falta de homogeneidad del producto cosechado. Se caracterizó la variabilidad en nueve poblaciones de *A. gratissima* var. *gratissima* del noreste de San Luis, Argentina, en base a caracteres morfológicos y fitoquímicos. Se encontró que la especie en la región presenta una considerable heterogeneidad. Se detectó diversidad en las características químicas de los aceites esenciales analizados y se relacionó la prevalencia de mono y sesquiterpenos con las identidades olfativas identificadas. Los componentes mayoritarios fueron el sesquiterpeno espatulenol y el monoterpene 1,8 cineol.

**Palabras clave:** *Aloysia gratissima*; Población nativa; Variabilidad fenotípica; Aceite esencial; Caracteres morfológicos.

## INTRODUCCIÓN

Dentro de la diversidad de plantas aromáticas y medicinales nativas de Argentina, se encuentra *Aloysia gratissima* var. *gratissima* (Gillies & Hook. ex Hook.) Tronc. Se trata de un arbusto aromático de hasta 3 metros de altura con tallos glabros, corteza blanco-grisácea estriada, hojas opuestas, de lámina elíptica a lanceolada, margen parcialmente serrado-dentado (Moroni et al., 2016). Las flores, tetrámeras, están dispuestas en racimos que semejan a espigas de hasta 10 cm de largo, solitarios o dispuestos en panojas terminales (Del Vitto et al., 2011). Sus partes aéreas se utilizan tanto en Argentina como en Uruguay, Paraguay y Brasil (Soler et al., 1986a; Soler et al., 1986b; Bassols y Gurni, 1996; Davies, 2004; Barboza et al., 2006; Ricciardi et al., 2006; Santos et al., 2013; Martínez, 2015; Galli et al., 2015). Es así que la denominación vernácula varía: “usillo” (San Luis), “palo amarillo” (Córdoba), “arrayán del campo” (Mendoza), “azahar del campo” (Buenos Aires), “niño rupá” (guaraní), “cedrón del monte” (Uruguay), “erva-santa” (Brasil), entre otros (Soler et al., 1986a; Davies, 2004; Ricciardi et al., 2006; Del Vitto et al., 2011; Santos et al., 2013; Martínez, 2015; Benovit et al., 2015). Esta gran diversidad de nombres vernáculos con la que se

conoce comúnmente a esta especie, sumado al hecho que muchas veces se recolectan especies botánicas similares como es el caso de *Aloysia decipiens* Ravenna, genera incertidumbre sobre el material botánico que se emplea en la industria. En Argentina se indica el uso de la infusión de las hojas y brotes tiernos como digestivo (Davies, 2004; Barboza et al., 2006; Martínez, 2015). En este sentido, existen estudios que avalan el uso popular como digestivo antiespasmódico, produciendo una inhibición no-competitiva de la concentración de acetilcolina con una CI50 comparable a la de *A. citrodora* Palau (Berardi, 2010). En adición, los extractos (infusión y cocimiento) en concentraciones de 0,05 y 0,5 mg/ml manifiestan ausencia de genotoxicidad (Ricco et al., 2010). En la provincia de San Luis, Del Vitto et al. (1997), lo citan como cardiotónico, sedante, carminativo, diaforético y digestivo. También es importante destacar su valor como especie melífera (Sérsic et al., 2006), pudiendo presentar hasta siete floraciones desde inicios de primavera a fines de otoño (Davies, 2004). En cuanto a los constituyentes de su aceite esencial, se han reportado numerosas composiciones que varían en función del área geográfica estudiada, la estación del año y la parte vegetal analizada (Tabla N° 1).

**Tabla N° 1**  
**Composición química de aceites esenciales de *A. gratissima* citados en diferentes regiones de Sudamérica**

Parte de la planta	Principales constituyentes	País	Referencia
Hojas	sabineno (30%) y $\beta$ -pineno (8%)	Minas, Uruguay	Soler et al., 1986 a
	acetato de pinocarveol (17,6%), pinocanfona (16,3%) y guaiol (11,5%)	Lavras, Brasil	Santos et al., 2013
	1,8-cineol (13,7%), germacreno D (13,4%), $\beta$ -cariofileno (12,7%) y $\beta$ -pineno (11,7%)	Guabiruba, Brasil	Santos et al., 2015
	1,8-cineol (18,5%), sabineno (9,5%), guaiol (6,8%) y biciclogermacreno (5,1%)	Santa Maria, Brasil	Benovit et al., 2015
	cadinol (32-33%), óxido de cariofileno (11-8,6%), $\beta$ -cariofileno (4,3-3,3%) y trans-verbenol (5,8-2,8%)	San Luis, Argentina	Bailac et al., 1999
	pinocanfona (25,4%), limoneno (15,1%) y guaiol (12,7%)	São Carlos, Brasil	Trovati et al., 2009
	$\beta$ -pineno (14,06%), pinocanfona (18,42%) y acetato de pinocarveol (13,55%)	Goiânia, Brasil	Franco et al., 2007
	1,8-cineol (45,5%), sabineno (8,3%), acetato de carvacrol (8,2%) y espatulenol (8,7%)	La Rioja, Argentina	Dambolena et al., 2010
Flores	pulegona (65,8%)	Córdoba, Argentina	Zygodlo et al., 1995
	globulol, sabineno, cariofileno y epóxido de cariofileno	Uruguay	Soler et al., 1986 b

	guaiol (19,5%), germacreno B (10,5%), bulnesol (10%) y <i>E</i> -cariofileno (8,9%)	Lavras, Brasil	Santos <i>et al.</i> , 2013
Parte aérea	pinocanfona (13,5-16,3%), $\beta$ -pineno (10,5 - 12 %), acetato de pinocarveol (7,3 - 8,3%) guaiol (6,6 - 8,7 %) y bulnesol (3,7 - 4,1 %)	Campinas, Brasil	Silva <i>et al.</i> , 2007
	cadinol (17,4%), óxido de cariofileno (15,8%), óxido de limoneno (5,3%), acetato de crisantenilo (5,6%) y $\beta$ -cariofileno (4,8%)	San Luis, Argentina	Duschatzky <i>et al.</i> , 2004
	$\gamma$ -elemeno (20 %), globulol (19 %) y espatulenol (13 %)	La Rioja, Argentina	Juliani <i>et al.</i> , 2004
	$\beta$ -elemene (tr a 35,7%), viridiflorol (0,9 a 33,6%), $\beta$ -cariofileno (1,8 a 28%) $\alpha$ -tuyona (6,8 - 17,5%) 10-epi-cubebol (0,1-13,4%), bicyclogermacreno (3,8-12,8%) y germacreno D (1,9-10,1%)	Corrientes, Argentina	Ricciardi <i>et al.</i> , 2006
	sabineno + $\beta$ -pineno (38%), $\beta$ -cariofileno (6,1%), pinocanfona (4,8%)	Uruguay	Dellacassa <i>et al.</i> , 2004
	1,8-cineol (22,1%), germacreno D (19,6%), bicyclogermacreno (7,9%)	Uruguay	Davies, 2004

El sector acopiador emplea alrededor de 1.000.000 kg al año de “usillo”, principalmente para la elaboración de yerbas compuestas. En volumen, representa la principal especie empleada en la región oeste de Córdoba y noreste de San Luis (Sierras Pampeanas). Proviene en su totalidad de la recolección de poblaciones espontáneas, con la consecuente heterogeneidad que ello acarrea en el producto que se comercializa (Galli *et al.*, 2015).

La topografía de la región noreste de la provincia de San Luis es muy heterogénea debido a dos sistemas montañosos: la sierra de San Luis y el borde oeste de la sierra de Comechingones. Este relieve accidentado tiene una influencia marcada en la expresión del clima, el suelo y la flora. La distribución espacial de las precipitaciones está dada por la isohieta de 600 mm en el límite oriental y la de 500 mm en el límite occidental. Si se toma en cuenta la hipsometría, se pueden diferenciar dos subregiones: planicie loésica (entre 800 y 600 msnm) y serrana (por encima de 800 msnm) (Peña Zubiate y d'Hiriart, 2005).

Para iniciar con el proceso de domesticación, y a partir de ello disponer de materiales seleccionados para cultivo, se debe contar en primera instancia con una sólida identificación taxonómica, conocer sus características biológicas, morfológicas, químicas y reproductivas, su distribución, las características del hábitat que ocupa, usos actuales y potenciales (Allard, 1970; Jaramillo y Baena, 2000; Ojeda, 2004; Elechosa y Juárez, 2009; Chaves, 2012).

El objetivo del trabajo fue caracterizar y

determinar la variabilidad fenotípica en poblaciones de crecimiento espontáneo de *Aloysia gratissima* var. *gratissima* del noreste de la provincia de San Luis, en base a caracteres morfológicos y fitoquímicos. Se describieron también las variables edafometeorológicas de los sitios donde se muestrearon las poblaciones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestrearon nueve poblaciones silvestres de *A. gratissima* var. *gratissima* en el noreste de la provincia de San Luis en marzo de 2016. Se abarcó una región de 60 km en dirección N-S por 70 km en dirección E-O. Con el objeto de seleccionar el número de individuos mínimo a relevar “*in situ*” que representen la variabilidad fenotípica de una población, se evaluaron 40 individuos a través de transectas en concordancia con la metodología empleada por otros investigadores de especies nativas (Ojeda, 2004; Chaves, 2012; Brunetti, 2014). Las poblaciones muestreadas representan la ladera oeste de la Sierra de Comechingones, del Valle del Conlara y la de ladera este de la Sierra de San Luis (Tabla N° 2).

### Características edafometeorológicas

En cada población se estimó el porcentaje de roca expuesta, tomando como referencia una superficie de 10 metros cuadrados (Matteucci y Colma, 1982). Además, se tomó una muestra compuesta de suelo de 0 a 20 cm de profundidad (Ojeda, 2004; Chaves, 2012), de la cual se determinó: a) el porcentaje (%)

de materia orgánica (MO); b) carbono orgánico (C) por vía húmeda según método de Walkley y Black modificado por Richter, estimando oxidación en 77% y expresado en gramos %, c) nitrógeno total (N) por micro Kjeldahl expresado en mg/gr, d) fósforo (P) disponible o asimilable extraído por Kurtz y Bray, e) la relación carbono/nitrógeno (C/N), f) la conductividad eléctrica (CE) por conductividad del

extracto de la pasta de suelo en dS/m y g) pH del extracto de la pasta. Con respecto a la información meteorológica, la misma se obtuvo de la Red de Estaciones Meteorológicas (REM) de la provincia de San Luis. Los datos recabados fueron: precipitación (mm) media anual (Ppma) y temperatura (°C) media anual (Tma), del mes de enero (Tene), del mes de julio (Tjul) y mínima del año (Tmin).

**Tabla N° 2**  
**Siglas de identificación de los 3 ambientes muestreados y las respectivas poblaciones**

Ambiente	Siglas ambiente	Población	Siglas población	Altitud (msnm)
Sierra de Comechingones	SC	Carpintería	CA	994
		Papagayos	PA	990
		Villa del Carmen	VC	990
Valle del Conlara	V	Los Molles	LM	786
		El Descanso	ED	756
		San Pablo	SP	744
Sierra de San Luis	SS	Los Argüellos	LA	596
		San Martín	SM	937
		El Vallecito	EV	1093

### **Variables morfológicas**

En noviembre de 2015, en cada población se seleccionaron 40 individuos (360 plantas en total), a lo largo de transectas con una separación mínima entre cada planta de diez metros. De cada una se extrajo una rama florida para ser herborizada y su posterior identificación en el Instituto de Botánica Darwinion. Ejemplares representativos de cada población se depositaron en el Herbario María Esther Bocco de la Universidad Nacional de Río Cuarto – RCVC. Luego, en marzo 2016, se procedió al registro de las siguientes variables *in situ*: altura de planta (cm), tallos principales (n°), diámetro del tallo principal (cm); se extrajo 4 ramas apicales de 40 cm de largo por planta para la medición en gabinete de ramificaciones secundarias (n°) con hojas y sin hojas, largo de entrenudo (cm) y de lámina foliar (mm), ancho de la lámina foliar (mm), relación largo/ancho foliar (mm) y superficie foliar (mm<sup>2</sup>).

### **Aceite esencial**

Se realizó una sensopercepción olfativa a cada planta *in situ*, mediante la rotura de las hojas con los dedos para poder detectar su aroma. Se consideraron los caracteres de intensidad de aroma y notas herbáceas o eucalipto. En base a esta se le asignó la identidad

olfativa con una numeración 1, 2 o 3 (Elechosa y Juárez, 2009). Bajo la denominación aroma 1 (A1), se agruparon por cada población aquellas plantas a las que se les percibió un olor más bien herbáceo y poco notorio. Como aroma 2 (A2), se clasificaron aquellas plantas que presentaron un aroma con algunas notas a eucalipto y de intensidad media. Por último, como aroma 3 (A3), se agruparon a las plantas que manifestaron un aroma intenso a eucalipto, que se percibe rápidamente con un sutil roce de sus hojas. En laboratorio se destilaron un total de 21 muestras en función de la identidad olfatoria en las 9 poblaciones. Se determinó el rendimiento de aceite esencial y el perfil de componentes químicos por GC-MS. El aceite esencial se extrajo por hidrodestilación con un equipo tipo Clevenger, a partir de las muestras secas se calculó el rendimiento (volumen/peso) y posteriormente se analizaron con un equipo Thermo scientific: espectrómetro de masa ITQ-900, GC Trace 1300, auto inyector AL 1310 y columna capilar OV-5MS.

### **Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico InfoStat/P (Di Rienzo *et al.*, 2016), mediante técnicas de análisis multivariado:

componentes principales (ACP) y análisis de conglomerados (Balzarini *et al.*, 2008; Balzarini *et al.*, 2015), y modelos lineales y mixtos para modelar heterogeneidad y detectar diferencias entre grupos (Di Rienzo *et al.*, 2011). Para determinar la significancia estadística de las diferencias entre las medias poblacionales se aplicó la prueba a posteriori DGC (Di Rienzo *et al.*, 2002). Además, se utilizó estadística descriptiva para resumir el comportamiento de cada variable analizada por población (Balzarini *et al.*, 2008).

## RESULTADOS

### Características edafometeorológicas

El suelo de las nueve poblaciones presentó valores medios (4%) a bajos (1%) de materia orgánica. Los registros menores se dieron en las tres poblaciones de la sierra de San Luis (Los Argüellos, San Martín y El Vallecito) y en dos sitios del Valle del Conlara (San Pablo y El Descanso). En tanto que los valores altos, entre 3% y 4,5%, se registraron en las tres poblaciones de la sierra de Comechingones (Carpintería, Papagayos y Villa del Carmen) y en una del Valle del Conlara (Los Molles) (Tabla N° 3).

**Tabla N° 3**  
**Caracterización físico - química del suelo en los sitios de crecimiento espontáneo de *A. gratissima***

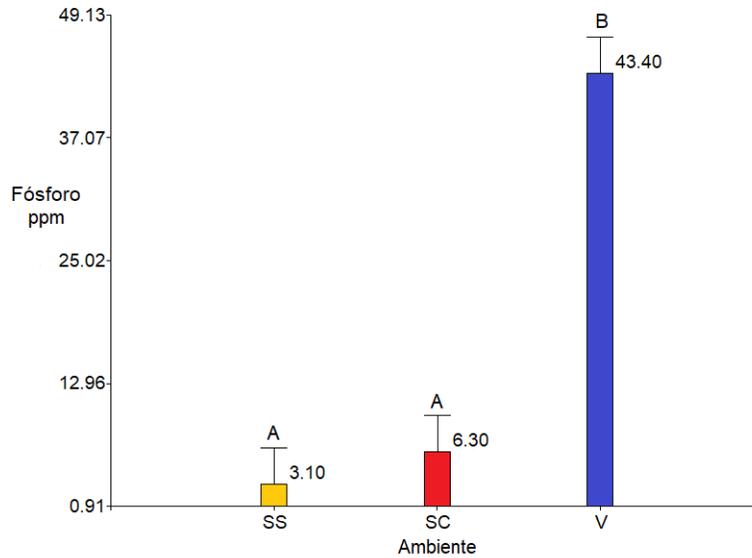
Ambiente	Población	MO	C	N	P	C/N	CE	pH
		(%)	(%)	(mg.gr)	ppm		(dS/m)	
SC	CA	4,15	2,41	2,19	5,3	11	0,16	6,94
	PA	3,1	2,32	4,30	3,1	5,4	0,15	6,73
	VC	3,2	1,86	3,25	10,5	5,7	0,24	6,92
VC	LM	4,06	2,36	2,23	53,4	10,5	0,24	6,55
	ED	1,54	0,89	1,81	42,9	4,9	0,2	7,7
	SP	2,14	1,24	1,30	33,9	9,5	0,16	7,24
SS	LA	1,33	0,77	1,22	4,7	6,3	1,73	8,21
	SM	1,68	0,98	1,92	1,3	5,1	0,06	6,83
	EV	1,04	0,61	1,85	3,3	3,3	0,08	7,42

MO: materia orgánica (%), C: carbono (%), N: nitrógeno mg/gr, P: fósforo ppm, C/N: relación carbono/nitrógeno, CE: conductividad eléctrica (dS/m)

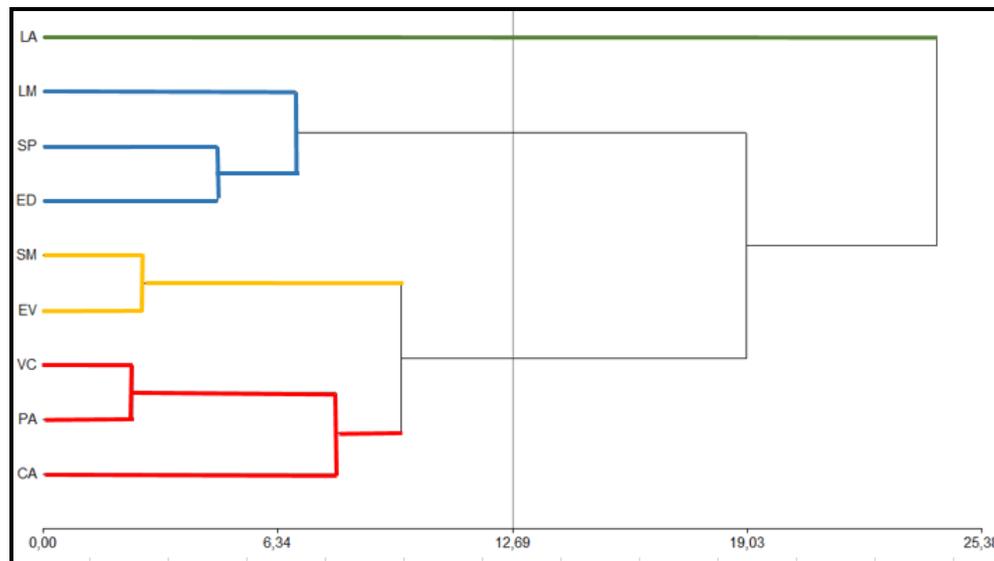
Con excepción de CA, LM y SP, la mayoría de los lugares presentaron valores bajos de relación C/N. En la Figura N° 1, se destaca la baja concentración de P (<15 ppm) en las poblaciones ubicadas en ambos cordones serranos, encontrándose diferencias estadísticamente significativas (DGC,  $p < 0,05$ ) con respecto al Valle del Conlara (43,4 ppm). Los valores de 6,3 ppm para la sierra de Comechingones y de 3,1 ppm para sierra de San Luis se encuentran dentro de lo que es considerado muy bajo (0-10 mg kg<sup>-1</sup>) (Sainz *et al.*, 2012).

El análisis de componentes principales determina que el 74,2% de la variabilidad total pudo ser explicada por los 2 primeros ejes. La primera

componente principal explica el 42,7% de la variabilidad entre los sitios, siendo la altitud, la temperatura media del mes de julio y el % de roca expuesta las variables de mayor peso. La segunda componente principal explica el 31,5 % de la variabilidad dentro de cada sitio muestreado debido al contenido de materia orgánica, la temperatura mínima del año y la relación C/N. En la Figura N° 2, se observa la semejanza entre los sitios muestreados por medio de un análisis de conglomerados, considerando como variables aquellas de mayor importancia para explicar la variabilidad según indican los ACP.



**Figura N° 1**  
 Concentración de fósforo en los primeros 20 cm del perfil de suelo en los ambientes de las poblaciones de “usillo”, expresado en ppm. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (DGC,  $p < 0,05$ )



**Figura N° 2**  
 Dendrograma del análisis de conglomerados de 9 poblaciones de *A. gratissima* var. *gratissima*, considerando variables edafometeorológicas

Por medio de este análisis se pueden diferenciar cuatro grupos, surgiendo un sector diferenciado (LA), con características

edafometeorológicas que permiten diferenciarlo de los otros dos sitios de la sierra de San Luis (SM y EV), entre ellas podemos mencionar una mayor Tma

y Tjul (Figura N° 3 y Figura N° 4). Además, a nivel de suelo, este sitio se caracterizó por presentar los

valores de pH y CE más elevados de todos los lugares muestreados (Tabla N° 3).

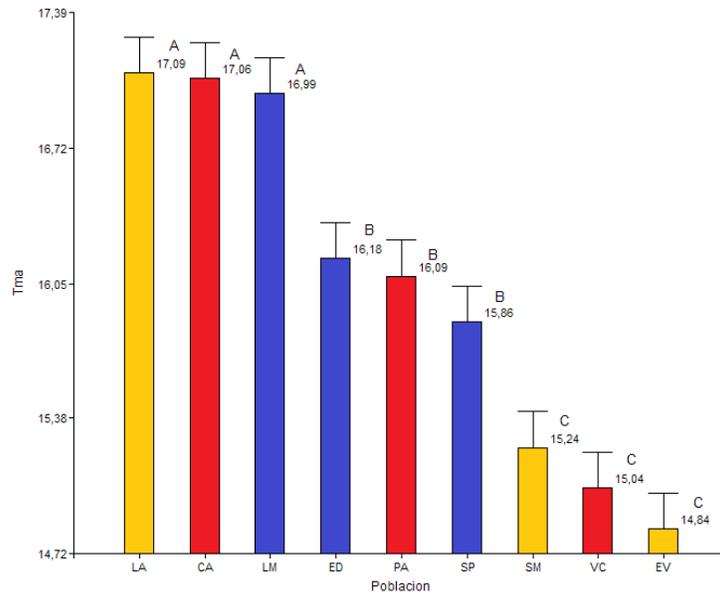


Figura N° 3

Temperatura media anual de los sitios evaluados. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (DGC,  $p < 0,05$ )

Considerando la temperatura media del mes de julio, la cual representa la temperatura media más baja del año, se encontró diferencias estadísticamente significativas (DGC,  $p < 0,05$ ) entre los sitios. Esto permite explicar en parte, junto con su menor altura sobre el nivel del mar (596 m), que Los Argüellos se separe como un sitio con características

edafometeorológicas diferenciables, puesto que, si bien cuenta con la temperatura media anual más alta del área estudiada, junto con LM y CA que son las poblaciones ubicadas al norte, no ocurre lo mismo con la temperatura del mes de julio y mínima del año, manifestando una mayor amplitud térmica.

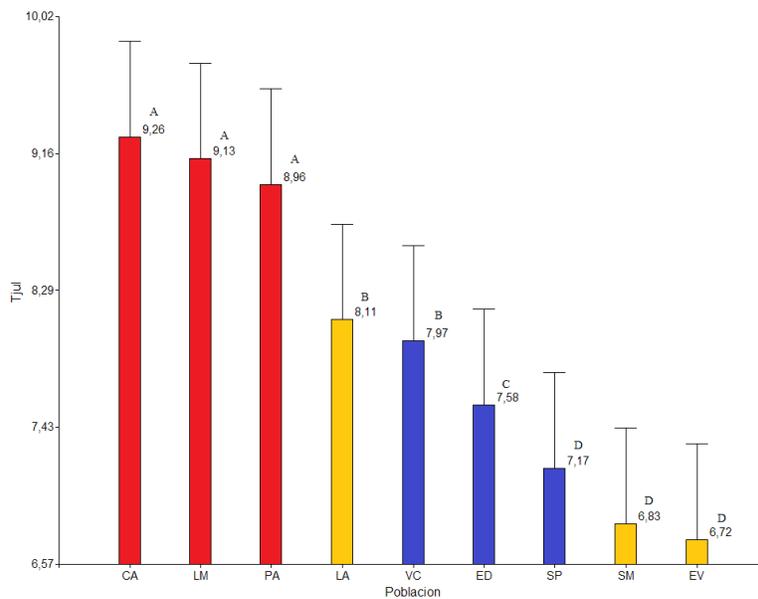


Figura N° 4

Temperatura media del mes de julio de los sitios evaluados. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (DGC,  $p < 0,05$ )

### Características morfológicas

Las 360 plantas muestreadas, fueron identificadas como *A. gratissima* (Gillies & Hook. ex Hook.) Tronc. var. *gratissima* por Dr. Pablo Moroni y Dra. Nataly O'Leary del Instituto de Botánica Darwinion (comunicación personal), considerando la reciente reclasificación del complejo '*Aloysia gratissima*' (Moroni et al., 2016). En la región estudiada, el 90% de los ejemplares tiene una altura menor a 2,80 m. Sin embargo, también se hallaron individuos de mayor porte superando los 4 m, principalmente en el Valle del Conlara. El número de tallos principales se encuentra en el rango de 1 a 18, siendo el valor más habitual de 1 a 5 (66% de los individuos). En la figura 5 se observa que el 78,8% de la variabilidad es explicada por los dos primeros ejes de un ACP. La primera componente principal explica el 50,7% de la variabilidad observada entre las poblaciones y está asociada principalmente a la relación largo/ancho de la hoja, altura de la planta y número de tallos. De esta forma podemos diferenciar las poblaciones que quedan hacia la derecha del gráfico (LM, ED y SP)

del resto (PA, VC, LA, CA, SM y EV) por tener mayor altura, hojas lanceoladas y un menor número de tallos. Por su parte, la segunda componente principal explica el 28% de la variabilidad observada entre las poblaciones y permite diferenciar en base a la superficie foliar y el largo del entrenudo.

Dos de las poblaciones ubicadas sobre el Valle del Conlara (ED y LM), son las que presentan la mayor altura promedio (> 2 m), destacándose el sitio ED con un valor de 3,18 m. Por otra parte, las ubicadas sobre ambos cordones montañosos manifiestan alturas promedios  $\leq 2$  m, con excepción de VC con un valor de 2,19 m, no diferenciándose de SP (figura 6). Las hojas de las plantas que crecen sobre el Valle del Conlara (LM, ED y SP) tienen una relación largo/ancho foliar mayor, tendiente a 4, mientras que las hojas de las plantas que crecen en ambas sierras tienden a una relación 3,5. Esto le confiere un aspecto ovalado o redondeado a las hojas de las poblaciones ubicadas en las sierras, mientras que en las poblaciones del valle las hojas tienden hacia una forma lanceolada (Figura N° 7).

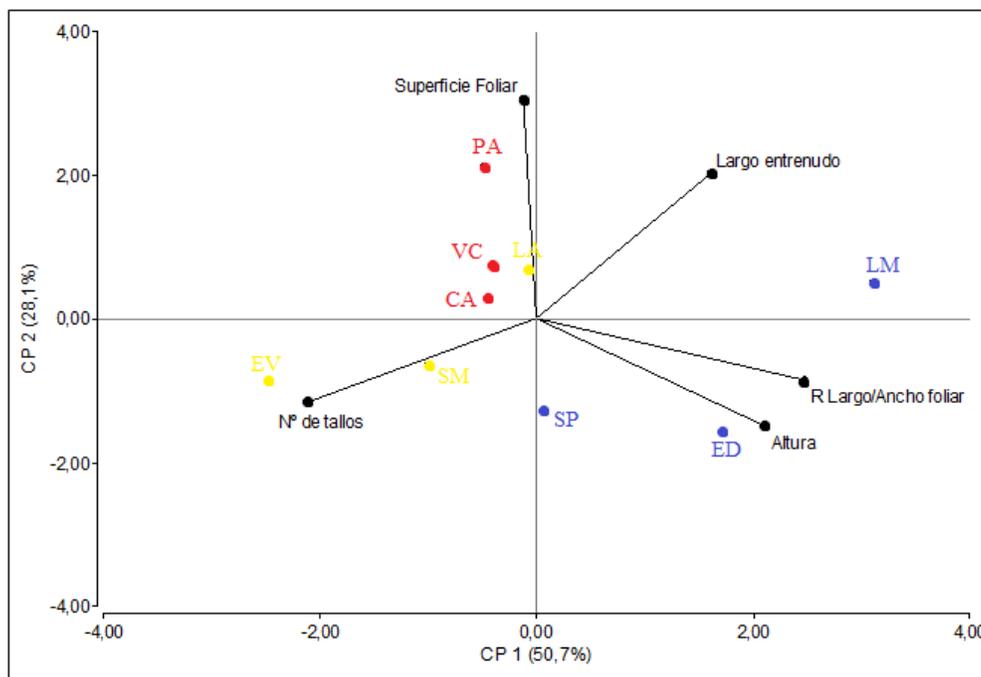


Figura N° 5

Variabilidad en nueve poblaciones espontáneas de *A. gratissima* var. *gratissima* según los dos primeros ejes de un análisis de componentes principales

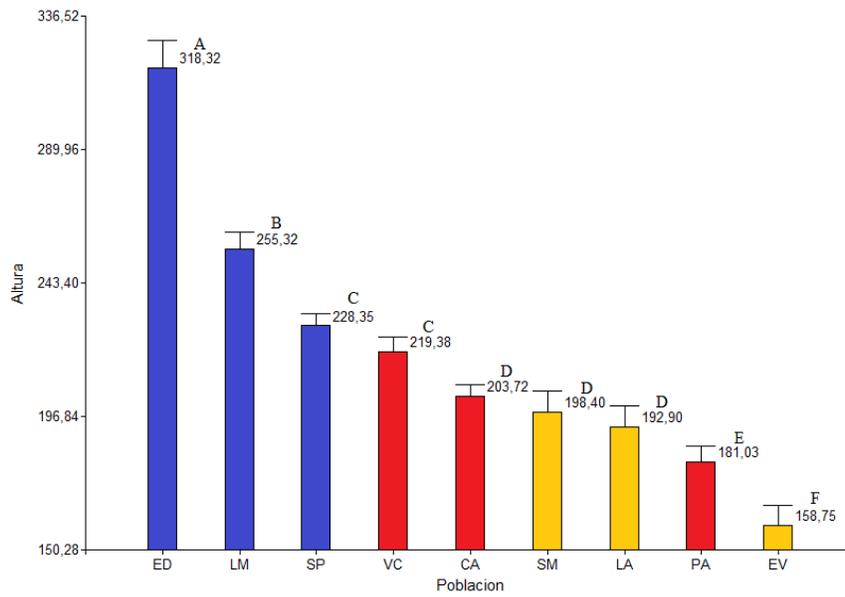


Figura N° 6

Valor promedio para la variable altura de planta (cm) de cada una de las poblaciones espontáneas evaluadas, medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )

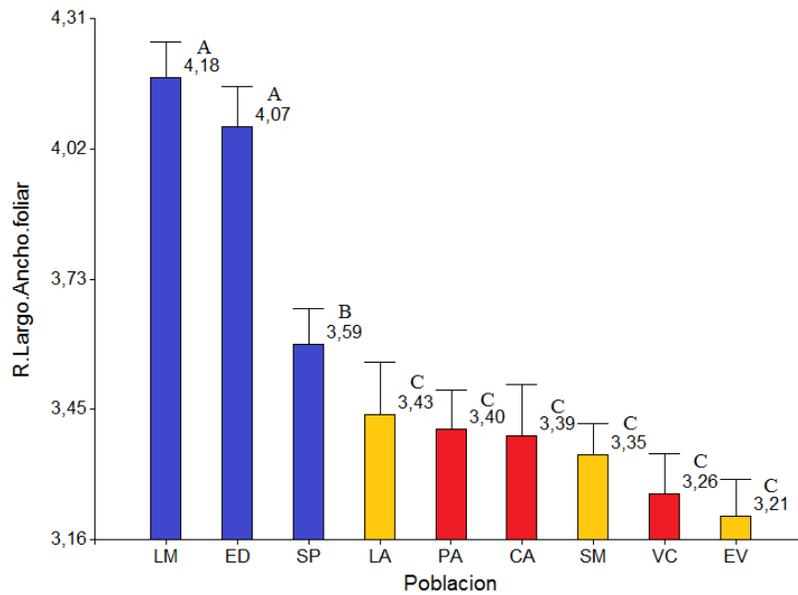


Figura N° 7

Valor promedio para la variable relación largo/ancho medido como promedio de 5 hojas extraídas de ramas apicales de 40 cm de crecimiento del año, medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )

**Aceite esencial**

Se clasificaron 3 identidades olfativas diferentes en el caso de las poblaciones CA, PA y VC. Mientras que en las poblaciones del Valle se detectó solo una (ED)

o dos (SP, LM). El rendimiento en aceite esencial osciló entre un valor máximo de 0,8% y un mínimo de 0,11% (v/p), de los cuales el 75% de las muestras se encuentran entre 0,11 – 0,26 % (Tabla N° 4).

**Tabla N° 4**  
**Rendimiento en aceite esencial por aroma y población**

Ambiente	Población	Aroma	Proporción de la Población	Rto ac %	Zona de prevalencia en el perfil cromatográfico
SC	CA	1	0,25	0,2	S
SC	PA	1	0,275	0,22	S
SC	VC	1	0,175	0,26	S
V	SP	1	0,875	s/d	S
V	LM	1	0,775	0,21	S
V	ED	1	1	0,14	S
SS	LA	1	0,425	0,22	M + S
SS	SM	2	0,9	0,24	M + S
SC	CA	3	0,1	0,55	M + S
SC	PA	2	0,25	0,2	M + S
SS	LA	2	0,575	0,21	M + S
SC	VC	2	0,575	0,44	M + S
SS	EV	2	0,675	0,22	M + S
SC	CA	2	0,65	0,15	M + S
SC	VC	3	0,25	0,8	M + S
SC	PA	3	0,475	0,75	M + S
SS	SM	3	0,1	0,62	M + S
V	LM	2	0,225	0,11	M + S
V	SP	2	0,125	0,13	s/d
SS	EV	1	0,15	0,21	s/d
SS	EV	3	0,175	0,18	s/d

**Región:** sierra de Comechingones (SC), sierra de San Luis (SS), Valle del Conlara (V); **Población:** Carpintería (CA), Papagayos (PA), Villa del Carmen (VC), San Martín (SM), El Vallecito (EV), Los Argüellos (LA), San Pablo (SP), El Descanso (ED), Los Molles (LM); **Aroma:** identidad olfativa detectada a campo A1, A2 y A3; **Proporción de la población:** número de individuos que fueron clasificados en un aroma expresado como relación con respecto al total de la población; **Rto ac:** rendimiento en aceite esencial expresado como % volumen/peso; **Zona de prevalencia en el perfil cromatográfico:** con predominancia de sesquiterpenos (S), con presencia de monoterpenos y sesquiterpenos (M+S); s/d: sin datos

Del análisis de los perfiles cromatográficos se detecta la existencia de componentes monoterpenos (M), a tiempos más bajos, y sesquiterpenos (S), alrededor de 25-35 min. Del análisis de cromatografía

de masa correspondiente se observa que los compuestos principales en cada grupo corresponden a 1,8 cineol, dentro de la primera zona, y espatulenol, en la segunda (Figura N° 8).

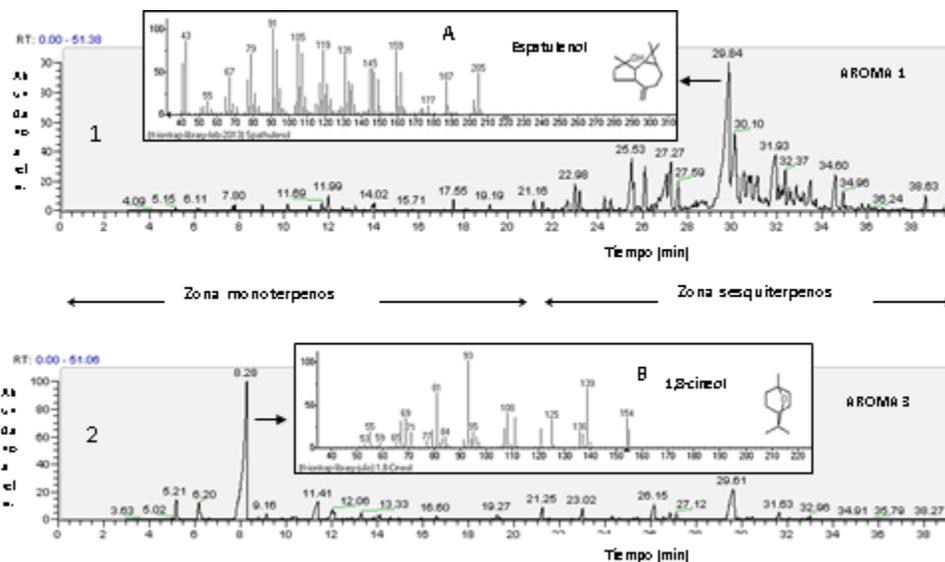


Figura N° 8

Perfiles cromatográficos de *Aloysia gratissima* var. *gratissima*. 1: Perfil representativo observado en el Aroma 1 con predominancia de sesquiterpenos (muestreo San Pablo SP-A1). 2: Perfil representativo observado en el aroma 3 con presencia de sesquiterpenos y monoterpenos (muestreo Papagayos PA-A3). En los gráficos insertados se muestran los espectros de masa correspondientes a (A) espatulenol y (B) 1,8-cineol.

Otros componentes encontrados, en diferentes proporciones según el origen de las muestras, son los monoterpenos alfa pineno, sabineno, verbenol (cis), timol, y los sesquiterpenos alfa copaeno, beta cariofleno, germacreno D, bicilogermacreno, cubebol, trans calameneno, alloaromadendreno.

Sobre la base que los sitios CA, PA, y VC presentan similitudes desde el punto de vista edafometeorológico, agrupados en el análisis de conglomerados de la Figura N° 2; y que en los mismos se pudo llegar a identificar los 3 aromas; se procedió a realizar un análisis con modelos lineales y mixtos de los caracteres morfológicos en los 120 individuos de dichas poblaciones ubicadas sobre SC, tomando como criterio de clasificación la identidad olfativa (Figura N° 9). Como puede observarse en los gráficos las plantas clasificadas como A3 presentan hojas con una mayor superficie foliar y entrenudos más largos. Además, la variable relación L/A foliar presenta el valor más alto en el A1, y coincide con los hallados en la población ED y LM en el Valle donde el mayor porcentaje de las plantas se identifican con el A1 (Tabla N° 4 y Figura N° 7).

## DISCUSIÓN

El análisis de las variables edafometeorológicas

permite diferenciar 3 subregiones dentro del área bajo estudio, evidenciando la heterogeneidad de la región citada en la bibliografía específica (Peña Zubiarte y d'Hiriart, 2005). De esta forma el Valle se separa de la zona serrana y a su vez dentro de esta última el sitio LA, localizado en la porción norte de la sierra de San Luis. Los resultados evidencian que los suelos con mayor contenido de MO se encuentran en la sierra de Comechingones y el sitio LM en el valle, que es el más próximo a este cordón. Esta variable es importante puesto que está relacionada a la fertilidad del suelo por la capacidad que tiene la materia orgánica de conferir estructura e intercambiar nutrientes. El macronutriente fósforo es otro carácter de importancia que permite diferenciar los sitios ubicados en el valle del Conlara con respecto a los hallados en la zona serrana, constituyendo una limitante en esta última zona por su bajo contenido disponible.

El rendimiento en aceite esencial detectado se encuentra dentro de lo referenciado por otros autores en poblaciones analizadas en La Rioja, Corrientes y San Luis (Bailac et al., 1999; Juliani et al., 2004; Ricciardi et al., 2006; Dambolena et al., 2010). En cuanto a los compuestos, tanto el monotrpeno 1,8 cineol como el sesquiterpeno espatulenol han sido citados en la composición de la especie en otras

regiones, aunque no para la provincia de San Luis

(Bailac *et al.*, 1999; Duschatzky *et al.*, 2004).

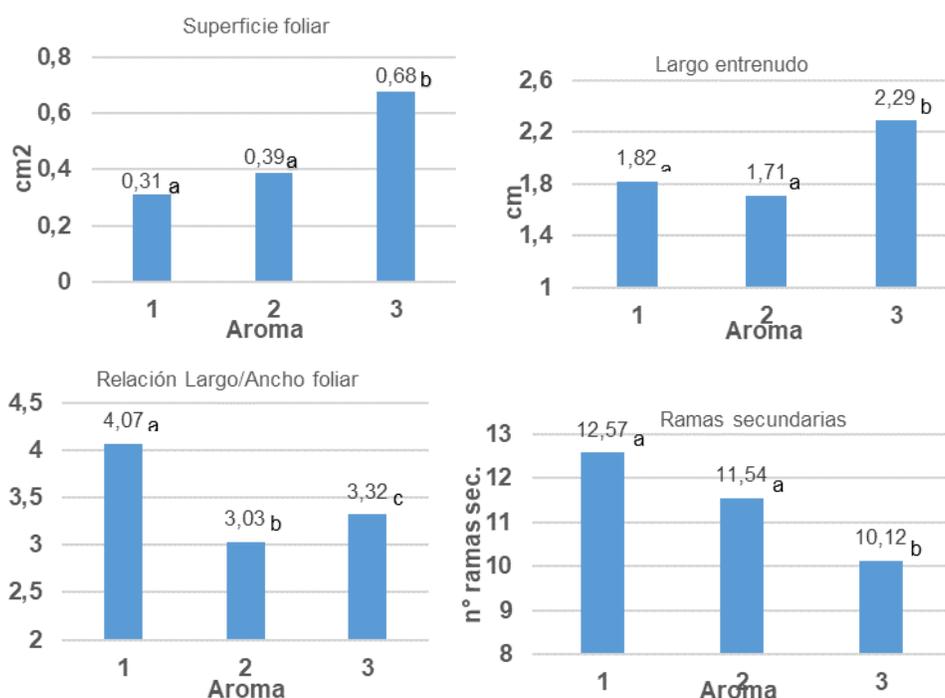


Figura N° 9

**Relación entre las variables morfológicas y el aroma de poblaciones de Sierra de Comechingones. a: superficie foliar, b: largo de entrenudo, c: relación largo ancho/foliar y d: ramificaciones secundarias. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )**

Con el propósito de relacionar las identidades olfativas con la producción de aceites esenciales en este estudio se analizaron los rendimientos y los perfiles químicos de estos. Una mayor producción de aceites esenciales favorecerá la detección de aromas y las características de su perfil químico se relacionarán con la percepción olfativa de este. Así, es de esperar que los aceites esenciales con mayor prevalencia de monoterpenos (M) sean más aromáticos debido su mayor volatilidad. En particular en esta especie, la presencia de 1,8-cineol le otorga las características asociados al descriptor “eucalipto”. Este aroma será más importante y limpio en aquellos perfiles donde la zona de sesquiterpenos (S) no sea tan importante (Figura N° 8, perfil 2). Cuando esta zona es relevante, se observa en el perfil cromatográfico una importante diversidad de compuestos químicos, con una prevalencia del espatulenol (Figura N° 8, perfil 1). En estos casos se detecta un aroma más “herbáceo” y menos intenso. El aroma identificado como 1 resulta más herbáceo y menos intenso correlacionándose con un menor

rendimiento de aceite esencial y un perfil con alta preponderancia de sesquiterpenos. El aroma 2, con notas eucalipto y de intensidad media/baja, tiene un rendimiento de aceite esencial bajo y un perfil con relevancia de monoterpenos y sesquiterpenos. El aroma 3, con notas más preponderante e intensas a eucalipto, presenta mayores rendimientos de aceite esencial y una zona de monoterpenos más preponderante (Tabla N° 4). Ricciardi *et al.* (2006), referencian la predominancia de sesquiterpenos sobre los monoterpenos en los perfiles analizados de poblaciones espontáneas de Corrientes, con variaciones porcentuales en los diferentes compuestos en función de la estación del año, pero siempre manteniendo la predominancia de sesquiterpenos sobre monoterpenos. El 1,8 cineol como componente mayoritario ha sido referenciado para la provincia de La Rioja (Dambolena *et al.*, 2010), existiendo también otra composición para la misma provincia con presencia minoritaria de espatulenol y ausencia de 1,8 cineol (Juliani *et al.*, 2004).

Cabe destacar que la producción de un aceite esencial, su rendimiento y composición química, responde a factores intrínsecos y extrínsecos. Los primeros tienen que ver con las características genéticas y fenológicas, y los segundos con condiciones medioambientales (Juliani *et al.*, 2004; Lopez Arze *et al.*, 2013; Prochnow *et al.*, 2017). Por ello es difícil establecer con certeza la existencia de quimiotipos. En base a esto es que este estudio intenta contemplar estos múltiples factores desde la selección de diferentes poblaciones en entornos ambientales diversos y correlacionarlos con criterios de análisis estadísticos. Así, la selección por identidad olfativa, es un criterio más para analizar, pero no el único. Los resultados del análisis en los individuos de las tres poblaciones en la SC podrían estar indicando la existencia de diferencias morfológicas asociadas a la composición del aceite esencial y al rendimiento del mismo, sin embargo, se requiere la profundización en el estudio para poder determinarlo con veracidad.

## CONCLUSIÓN

La detección de dos perfiles cromatográficos diferenciados dentro de las poblaciones de una misma

subregión (sierra de Comechingones) muestreada en una estación del año determinada (marzo) y en el mismo estado fenológico (plena floración), podría indicar la existencia de quimiotipos para la región estudiada en el presente trabajo. Los caracteres de la morfología foliar y el largo de entrenudo permitiría la diferenciación de materiales *in situ* con un mayor contenido de 1,8 cineol y rendimiento en aceite esencial por planta, tal como lo muestran los resultados del análisis de las poblaciones ubicadas sobre la Sierra de Comechingones. Las plantas identificadas como A1 presentaron una R lago/ancho foliar de 4,07 y un perfil cromatográfico con predominancia de sesquiterpenos, muy similar al hallado en las plantas localizadas sobre el Valle y en donde predomina este perfil. Se requiere continuar con los estudios *ex situ* para determinar en qué proporción las diferencias halladas en el fenotipo son debidas al genotipo.

## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por el financiamiento de la beca de formación con la cual se realizó el estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- Allard RW. 1970. **Population structure and sampling methods**. In: Frankel OH, Bennett E. Genetic resources in plants-their exploration and conservation, Blackwell Scientific Publications, Oxford, United Kingdoms.
- Bailac PN, Dellacassa AD, Duschatzky CB, Firpo N, Ponzi MI. 1999. Composición del aceite esencial y actividad antimicrobiana de *Aloysia gratissima* de San Luis – Argentina. **An Asoc Quím Arg** 87: 149 - 153.
- Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Casanoves F, Di Rienzo JA, Robledo CW. 2008. **Manual del usuario Infostat**. Ed Brujas, Córdoba, Argentina.
- Balzarini M, Bruno C, Córdoba M, Teich I. 2015. **Herramientas en el análisis estadístico multivariado**. Ed I Brujas, Córdoba, Argentina.
- Barboza GE, Cantero JJ, Nuñez CO, Espinar LA. 2006. **Flora medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina)**. Ed I Museo Botánico Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Bassols GB, Gurni AA. 1996. Especies del género *Lippia* utilizadas en medicina popular Latinoamericana. **Dominguezia** 13: 7 - 25.
- Berardi A. 2010. **Etnofarmacología gastrointestinal de plantas medicinales argentinas del género *Aloysia*, familia *Verbenaceae*: mecanismos de acción y relación con los principios activos**. Tesis, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
- Benovit SC, Silva LL, Salbego J, Loro VL, Mallmann CA, Baldisserotto B, Flores EMM, Heinzmann BM. 2015. Anesthetic activity and bio-guided fractionation of the essential oil of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Ann Acad Bras Cienc** 87: 1675 - 1689. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140223>
- Brunetti PC, Bruno CI, Zapata RM, Torres LE, Barboza GE, Ojeda MS. 2014. Estimación del tamaño muestral para estudios de variabilidad morfológica *in situ* de *Lippia integrifolia* (Verbenaceae) en el Parque Nacional Talampaya, La Rioja (Argentina). **Bonplandia** 23: 15 - 23. <https://doi.org/10.30972/bon.2311234>
- Chaves G. 2012. **Variabilidad morfológica de poblaciones de *Baccharis ssp.*, “carquejas” (Asteraceae) de las Sierras de Córdoba y San Luis (Argentina)**. Tesis, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba,

Argentina.

- Dambolena JS, Zunino MP, Lucini EI, Zygadlo JA, Banchio E, Biurrun F, Rotman A, Ahumada O. 2010. Aromatic plants of northwest Argentina. Constituents of the essential oils of aerial parts of seven *Verbenaceae*: *Lantana* and *Aloysia*. **J Essent Oil Res** 22: 289 - 293. <https://doi.org/10.1080/10412905.2010.9700326>
- Davies P. 2004. **Estudios de domesticación y cultivo de especies medicinales y aromáticas nativas**. INIA, Uruguay.
- Dellacassa E, Lorenzo BD, Paz D. 2004. **Caracterización fisicoquímica de los aceites esenciales**. In Davies P. Estudios de domesticación y cultivo de especies medicinales y aromáticas nativas. INIA, Uruguay.
- Del Vitto LA, Petenatti EM, Petenatti ME. 1997. Recursos herbolarios de San Luis (República Argentina) primera parte: plantas nativas. **Multequina** 6: 49-66.
- Del Vitto LA, Petenatti EM, Petenatti ME. 2011. **Flores y plantas de la reserva natural Mogote Bayo y costa de la sierra de Comechingones, Merlo, San Luis, Argentina**. Ed I Fundación Espacios Verdes, Buenos Aires, Argentina.
- Di Rienzo JA, Guzmán AW, Casanoves F. 2002. A multiple comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. **J Agric Biol Environm Stadist** 7: 1 - 4.
- Di Rienzo JA, Macchiavelli RE, Casanoves F. 2011. **Modelos lineales mixtos: aplicaciones en InfoStat**, Ed I Córdoba, Argentina.
- Duschatzky CB, Martínez AN, Almeida NV, Bonivardo SL. 2004. Nematicidal activity of the essential oils of several Argentina plants against the root-knot nematode. **J Essent Oil Res** 16: 626 - 628. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698812>
- Elechosa MA, Juaréz M. 2009. **Manual de recolección sustentable de plantas aromáticas nativas de la región central y noreste de la Argentina**. Publicaciones INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Franco AP, Oliveira TB, Ferri PH, Bara MTF, de Paula JR. 2007. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook) Tronc. (Alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca-cravo) e *Curcuma longa* L. (açafraão). **Rev Elect Farm** 4: 208 - 220. <https://doi.org/10.5216/ref.v4i2.3063>
- Galli MC, Risso OA, Manazza JF. 2015. Dinámica de la cadena de valor de especies aromáticas y medicinales en la región de las Sierras Pampeanas. **Lilloa** 52: 30 - 32.
- Jaramillo S, Baena M. 2000. **Conservación ex situ de recursos fitogenéticos**. Instituto Internacional de recursos fitogenéticos, Cali, Colombia. [https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/\\_migrated/uploads/tx\\_news/1645\\_Material\\_de\\_apoyo\\_a\\_la\\_capacitaci%C3%B3n\\_en\\_conservaci%C3%B3n\\_ex\\_situ\\_de\\_recursos\\_fitogen%C3%A9ticos\\_01.pdf](https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/1645_Material_de_apoyo_a_la_capacitaci%C3%B3n_en_conservaci%C3%B3n_ex_situ_de_recursos_fitogen%C3%A9ticos_01.pdf)
- Juliani HR, Koroch A, Simon E, Biurrum FN, Castellano V, Zygadlo J. 2004. Essential oils from argentinean aromatic plants. **Acta Horticult** 629: 491 - 498. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2004.629.63>
- Lopez Arze JB, Collin G, Garneau FX, Jean FI, Gagnon H. 2013 Essential oils from Bolivia. XI. Verbenaceae: *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. and Boraginaceae: *Cordia chacoensis* Chodat. **J Essent Oil Bearing Plant** 16: 545 - 550. <https://doi.org/10.1080/0972060x.2013.831553>
- López RJ, López MJ. 1990. **El diálogo de suelos y plantas (métodos de campo y laboratorio)**. Mundi Prensa, Madrid, España.
- Martínez G. 2015. **Las plantas en la medicina tradicional de las Sierras de Córdoba**. Ed. II De todos los mares, Cordoba, Argentina.
- Matteucci SD, Colma A. 1982. **Metodología para el estudio de la vegetación**. Monografía de la OEA, Washington DC, USA.
- Moroni P, O'leary N, Filloy J. 2016. Species delimitation in the *Aloysia gratissima* complex (Verbenaceae) following the phylogenetic species concept. **Bot J Linn Soc** 180: 193 - 212. <https://doi.org/10.1111/boj.12369>
- Ojeda MS. 2004. **Caracterización de poblaciones y avances en la domesticación de peperina *Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb**. Tesis, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Peña Zubiata CA, Dhiriart A. 2005. **Carta de suelos de la República Argentina: Hoja Concarán**. Provincia de San Luis. EEA San Luis-INTA Gobierno de la Provincia de San Luis, Argentina.
- Prochnow D, Stringari Altissimo B, da Silva JC, Meira D, Caron BO, Heinzmann BM, Schmidt D. 2017. Chemical

- composition of the essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hér) Britton due to water deficit and seasonality. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 16: 121 - 128.
- Ricciardi GAL, Van Baren CM, Di Leo Lira P, Ricciardi AIA, Lorenzo D, Dellacassa E, Bandoni AL. 2006. Volatile constituents from aerial parts of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. var. *gratissima* growing in Corrientes, Argentina. **Flav Frag J** 21: 698 - 703. <https://doi.org/10.1002/ffj.1690>
- Ricco RA, Wagner ML, Portmann E, Reides C, Llesuy S, Gurni AA, Carballo MA. 2010. Análisis de polifenoles, actividad antioxidante y genotoxicidad en especies argentinas de *Lippia* y *Aloysia* (Verbenaceae). **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 9: 388 - 396.
- Sainz RH, Echeverría H, Angelini H. 2012. Fósforo disponible en suelos agrícolas de la región Pampeana y Extra Pampeana, Argentina. **Rev Invest Agrop** 38: 33 - 39.
- Santos FM, Pinto JEBP, Bertolucci SK, Alvarenga AA, Alvares MN, Duarte MCT, Sartor A. 2013. Chemical composition and from the leaves and flowers of *Aloysia gratissima*. **Rev Bras Plant Med** 15: 583 - 588. <https://doi.org/10.1590/s1516-05722013000400015>
- Santos TG, Laemmle J, Rebelo RA, Dalmarco EM, Cruz AB, Scmit AP, Cruz RCB, Zeni AB. 2015. Chemical composition and antimicrobial activity of *Aloysia gratissima* (Verbenaceae) leaf essential oil. **J Essent Oil Res** 27: 125 - 130. <https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1006737>
- Sérsic A, Cocucci A, Benitez-Vieyra S, Cosacov A, Díaz L, Glinos E, Grosso N, Lazarte C, Medina M, Moré M, Moyano M, Nattero J, Paiaro V, Trujillo C, Wiemer P. 2006. **Flores del centro de Argentina, una guía ilustrada para conocer 141 especies típicas**. Ed I El Emporio, Cordoba, Argentina.
- Silva DCMN, Meireles MAA, Brat P, Magalhaes PM, Menut C. 2007. Chemical composition and biological activity of natural extracts obtained from a Brazilian aromatic plant (*Aloysia gratissima*) by supercritical CO<sub>2</sub> and hydrodistillation. **Int J Essent Oil Ther** 1: 172 - 178.
- Soler E, Dellacassa E, Moyna P. 1986a. Composition of *Aloysia gratissima* leaf essential oil. **Phytochemistry** 27: 1343 - 1345. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)81286-8](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)81286-8)
- Soler E, Dellacassa E, Moyna P. 1986b. Composition of *Aloysia gratissima* flower essential oil. **Planta Med** 52: 488 - 490. <https://doi.org/10.1055/s-2007-969262>
- Trovati G, Chierice GO, Sanches EA, Galhiane MS. 2009. Essential oil composition of *Aloysia gratissima* from Brazil. **J Essent Oil Res** 21: 325 - 326. <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700183>
- Zygadlo JA, Lamarque AL, Guzman CA. 1995. Composition of the flower oil of some *Lippia* and *Aloysia* species from Argentina. **J Essent Oil Res** 7: 593 - 595.