



“MULTIPLICACIÓN VEGETATIVA POR ESTACAS DE *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke”

Trabajo final de graduación
Modalidad: Tesina

Alumna: Umansky, Susana Inés

Directora: Ing. Agr. (Mgter.) SCHROEDER, María Andrea

Tribunal Evaluador:

Ing. Agr. (Dra.) ALAYON LUACES, Paula

Ing. Agr. (Mgter.) BERNARDIS, Aldo Ceferino

Ing.Agr. (Dra.) PEICHOTO, Myriam Carolina

2016

Título:

“Multiplicación vegetativa por estacas de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke”

Introducción:

El consumo de hierbas medicinales y aromáticas en nuestra región es tradicional y generalizado. Es una costumbre que llega de los guaraníes, que tuvieron una noción amplia del uso y las propiedades de las plantas nativas e hicieron de ello una aplicación adecuada para la prevención y el tratamiento de varias enfermedades que afectan al hombre (Fretes, 2010).

Es reconocido que las plantas medicinales y aromáticas constituyen un mercado cada vez más promisorio para los países iberoamericanos, en parte por el surgimiento en el ámbito mundial del “consumo verde”, que reconoce la unidad del hombre con la naturaleza y busca fuentes terapéuticas en ésta; y, en gran medida por la necesidad creciente de recuperar nuestras raíces, nuestra cultura y nuestra identidad (Fretes, 2010).

***Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke** es un arbusto nativo que habita el norte argentino y forma parte del Bosque Chaqueño, conocido comúnmente como poleo de castilla, té de burro o burrito (Martínez, 2005).

Es una de las 30 especies que pertenecen al género *Aloysia* Paláu, ampliamente distribuidas en América subtropical y templada, desde el sur de los Estados Unidos hasta el Norte de la Patagonia y Centro de Chile. Frecuentemente en el monte o sotobosque de la selva. Es un arbusto leñoso, generalmente muy ramificado, de 1 – 2 m de altura, con ramas delgadas, algo sarmentosas, finamente pubescentes. Hojas glaucas, enteras, lanceoladas, muy aromáticas, alternas, cortamente pecioladas. Yemas axilares múltiples. Inflorescencias generalmente en espigas cilíndricas, con flores blanquecinas, pequeñas, axilares. Florece en verano y otoño y se multiplica por gajos y semillas (Parodi, 1959; Ratera y Ratera 1980; Múlgura de Romero *et al.*, 2002).

Adquiere un marcado interés económico debido a que sus hojas contienen derivados terpénicos (Fester *et al.*, 1961), los cuales hacen que las infusiones de las mismas posean propiedades tónicas carminativas, especialmente digestivas (Martínez Crovetto, 1981; Ratera y Ratera 1980) y antiespasmódicas (Berardi, 2010; Consolini *et al.*, 2011). Su extracto hidroalcohólico tiene efecto sedante y antidepresivo semejante al inducido por antidepresivos tricíclicos (Mora *et al.*, 2005; Hellion-Ibarrola e Ibarrola 2008).

En medicina popular, la infusión de las hojas y flores, se utiliza contra dolores de estómago, trastornos hepáticos, digestiones lentas, empachos, acidez, náuseas y vómitos. También se lo puede consumir en forma de comprimidos (Aguado *et al.*, 2006).

Industrialmente cultivada para formar parte de la “yerba mate compuesta”, con agregado de otras hierbas como cedrón, carqueja, menta, limón. Esta planta se encuentra muy arraigada en el uso popular, puede hallarse tanto en forma silvestre como domesticada en casas y jardines.

Se ha comprobado su efecto repelente en gorgojos de productos almacenados, tales como harina, granos, semillas, frutas secas, especies e insecticida sobre *Rhyzopertha*

dominica, otro gorgojo de los granos almacenados (Gutierrez *et al.*, 2008; Benzi *et al.*, 2009). Repelente y ovicida de *Nezara viridula*, la chinche verde que afecta a todo tipo de cultivos, tomate, pimiento, melón, pepino, cereales, soja (Werdin Gonzalez 2010). No esta citada en la Farmacopea Argentina.

Antecedentes:

Esta especie ha sido muy estudiada en cuanto a su posición taxonómica, mejoramiento genético y micropropagación (Burdyn *et al.*, 2006); la composición química de sus aceites y sus posibles usos farmacológicos. Pero los estudios sobre las prácticas agronómicas son muy escasos, siendo recientes las investigaciones acerca de este cultivo (Zumelzú *et al.*, 2000; Schroeder *et al.*, 2007; Berardi 2010; Schroeder y Popoff, 2012).

La Organización Mundial de la Salud considera fundamental que se realicen investigaciones acerca de las plantas utilizadas con fines medicinales y sus principios activos para garantizar su eficacia y seguridad terapéutica (Carlos *et al.*, 2000); por ello es importante establecer líneas de acción relacionadas al desarrollo de técnicas de manejo de cultivos con potencial terapéutico, considerando su utilización por el hombre y el mantenimiento del equilibrio del ecosistema (Mattos, 2000). Estas técnicas deben respetar las condiciones edafoclimáticas regionales ya que la producción de principios activos puede verse afectada por las condiciones ambientales del cultivo (Zoghbi *et al.*, 1998; Schroeder *et al* 2007)

En los países en desarrollo, donde las hierbas son producidas en pequeños establecimientos y la mano de obra familiar se ocupa desde la siembra hasta el embalaje final, se carece de tecnología y soporte por parte de sus municipios, para poder ofrecer un material con mayor valor agregado.

Si bien naturalmente las especies medicinales en su mayoría se propagan sexualmente, la multiplicación por semillas de *A. polystachya* no se realiza debido al escaso poder germinativo (Berardi, 2010). En cultivos comerciales el método de propagación preferido para la mayoría de las plantas medicinales es por estacas, en tierra fértil, suelta y abonada, en los meses de otoño, trasplantándolas a lugar definitivo a comienzo de la primavera (Zumelzú *et al.*, 2000).

La revisión bibliográfica realizada nos permitió encontrar algunas referencias en cuanto al protocolo de enraizamiento (López *et al.*, 2008; Schroeder *et al.*, 2007; Fretes 2010; Berardi, 2010) pero no existen trabajos publicados específicamente al respecto, por ello nos planteamos la necesidad de estudiar la multiplicación mediante estacas de burrito y obtener datos zonales que permitan la obtención, de manera rápida y económica, plantines de esta especie.

Objetivos:

A.-General:

Evaluar la factibilidad de la reproducción vegetativa por estacas de *Aloysia polystachya*.

B.-Particulares:

- a) Determinar el tipo de estaca más apto para la propagación.
- b) Determinar el sustrato de enraizamiento más apto para la propagación.
- c) Evaluar el uso de regulador de crecimiento vegetativo.

Hipótesis:

La propagación vegetativa por estacas de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke es posible, y permitiría obtener en forma económica, rápida y simple plantas en cantidad suficiente para su producción comercial.

Materiales y métodos:

El ensayo fue llevado a cabo en un invernadero perteneciente al departamento de Física y Química de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), ubicado en el Departamento Capital de la Provincia de Corrientes (27° 27' 33.80"S, 58° 49' 21.36"O), Argentina.

Las estacas fueron obtenidas a partir de ejemplares adultos de *Aloysia polystachya* seleccionados como plantas madres (Figuras 1 y 2), que crecen en el Huerto de Plantas Aromáticas y Medicinales del Campo Didáctico Experimental de la FCA de la UNNE. Se seleccionaron plantas en buen estado fitosanitario.



Figuras 1 y 2: Plantas madres donadoras de estacas de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke cultivadas en el Campo Didáctico Experimental de la FCA de la UNNE

El diseño experimental utilizado fue en bloques completos al azar con tres repeticiones de 108 unidades experimentales cada uno, con un arreglo factorial 3x3x2. Fueron analizados los siguientes factores: tratamiento con regulador de crecimiento vegetativo (niveles con y sin), tipo de estaca (niveles estaca terminal, estaca intermedia y estaca basal) y tipo de sustrato (niveles arena, sustrato suelo y sustrato comercial).

Fueron utilizadas estacas terminales, intermedias y basales de diez centímetros de longitud, con dos hojas cada una y aproximadamente de 3 a 5 cm de diámetro. Las estacas terminales son las obtenidas del extremo apical de la rama, las intermedias de la porción central y las basales corresponden a las que se extraen del extremo inferior de la misma. La extracción de las estacas se llevó a cabo en el mes de octubre de 2015, a primera hora de la mañana y fueron llevadas inmediatamente, envueltas en papel de diario húmedo para evitar que se marchiten, al invernadero de la FCA UNNE, donde se procedió a su plantación.

Para esta experiencia fueron utilizados tres sustratos: arena húmeda, suelo y sustrato comercial. La desinfección de los mismos se llevó a cabo mediante el riego con agua a 100°C días previos a la plantación.

La arena utilizada fue adquirida en una casa de materiales de construcción, tamizada y desinfectada.

El suelo utilizado proviene del Campo Didáctico Experimental, se clasifica como Udipsamment álrico, mixto, hipertérmico, pertenece a la Serie Ensenada Grande. Estos suelos presentan una granulometría gruesa en superficie, de colores pardo a pardo rojizo en los horizontes subyacentes, son profundos (> 100 cm), masivos, muy friables y mediano a débilmente ácidos en el horizonte A (Soil Survey Staff, 1990).

El tercer sustrato, el comercial, es tierra negra abonada, nombre comercial: Suelo Fértil. La plantación se llevó a cabo en macetas plásticas individuales.

Las estacas que recibieron el tratamiento con el regulador de crecimiento vegetativo fueron sumergidas en una solución de Ácido 1-naftalén-acético (ANA), al 0,1 % (1000 ppm) durante treinta minutos, la formulación comercial correspondía a la marca Fertifox hormona.

La base de todas las estacas fue tratada con un fungicida para prevenir posibles ataques de hongos fitopatógenos. Para ello se colocaron las estacas previamente humedecidas en un recipiente que contenía el fungicida en polvo para que la base quede completamente recubierta con él. La dosis utilizada fue dicarboximida al 80% (Captan-: N-(trichloromethylthio) cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide).

Una vez plantadas las estacas fueron colocadas bajo una estructura hecha de madera y recubierta con plástico (Figura 3) para evitar que se deshidraten, allí se las mantuvo durante las primeras semanas del experimento.



Figura 3: Estructura de madera recubierta con plástico.

Se realizaron riegos periódicos, cada 48 hs durante las dos primeras semanas, y diariamente después de la tercera.

La toma de datos fue realizada a los 60 días de la plantación. Las variables medidas fueron: porcentaje de enraizamiento (%), el número de raíces por estaca, longitud de raíces (cm) y porcentaje de estacas con brotación (%).

Se midió la longitud de las raíces, teniendo en cuenta la raíz de mayor longitud para la toma de datos. Las mediciones fueron realizadas utilizando una regla con apreciación en cm.

Con los datos obtenidos, se realizó un análisis de la variancia (ANOVA) y test de significancia (Test de Tukey a un nivel $\alpha = 0.05$), empleándose el Software Infostat (2012).

Resultados y discusión:

Al cabo de los 60 días de plantación se evaluaron las distintas variables. El análisis estadístico se realizó analizando los tres factores por separado en una primera etapa y observando luego si había o no interacciones entre los mismos.

Los valores promedios obtenidos para los distintos factores y niveles se encuentran detalladas en la Tabla 1:

Tabla 1: Medias obtenidas para los tratamientos con REGULADOR DE CRECIMIENTO VEGETATIVO (nivel con y sin), SUSTRATO (nivel arena, sustrato suelo y sustrato comercial), tipo de ESTACA (niveles estaca basal, intermedia y terminal)

| FACTORES | REGULADOR DE CRECIMIENTO VEGETATIVO | | | SUSTRADOS | | | ESTACAS | | |
|----------------------|-------------------------------------|---------|---------|-----------|---------|-------------|---------|------------|----------|
| | Niveles | Sin | Con | Arena | Suelo | S.Comercial | Basal | Intermedia | Terminal |
| Enraizamiento (%) | 40,52 B | 29,41 A | 68,22 B | 20,17 A | 16,50 A | 29,50 A | 47,78 B | 27,61 A | |
| Long. de raíces (cm) | 5,39 B | 4,11 A | 6,47 B | 4,58 A | 3,21 A | 3,44 A | 7,14 B | 3,68 A | |
| Nº de raíces | 9,16 A | 7,15 A | 15,41 B | 4,56 A | 4,50 A | 6,00 A | 10,80 B | 7,67 A | |
| Brotación (%) | 39,26 B | 29,41 A | 66,33 B | 20,17 A | 16,50 A | 29,44 A | 47,78 B | 25,78 A | |

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \geq 0,05$)

Para el FACTOR REGULADOR DE CRECIMIENTO VEGETATIVO (RCV), observamos que hubo diferencias significativas a favor del nivel sin RCV para las variables porcentaje de enraizamiento, longitud de raíces y porcentaje de brotación.

Pudimos observar que cuando las estacas no fueron tratadas con RCV enraizaron en mayor cantidad y tuvieron mayor longitud, en promedio fueron un centímetro más largas que las tratadas, aunque el número de raíces fue similar. Las raíces más largas permitieron que las estacas tuvieran una mayor exploración en profundidad de los distintos sustratos (Figura 4). Las estacas tratadas con RCV presentaron raíces escasas, menos homogéneas y de menor longitud, las raíces tenían mayor grosor y una cabellera radicular menos desarrollada (Figura 5).



Figuras 4: Raíces obtenidas sin RCV



Figura 5: Raíces obtenidas con RCV.

La media obtenida para la variable porcentaje de enraizamiento en estacas tratadas con RCV fue de 29,41% mientras que sin RCV fue de 40,52% (Fig. 6). Resultados similares fueron obtenidos en *Cordia curasavica* y *Catharanthus roseus* donde el pretratamiento hormonal con ANA en la misma dosis no mejoró el porcentaje de enraizamiento (Schroeder y Velozo 2014); (Dirchwolf y Schroeder 2015). En el caso de la hierba luisa (*Aloysia citriodora*) el prendimiento de esquejes ascendió de 60 a más de 90% cuando se los sumergió previamente en un producto enraizante a base de esta hormona, resultados que no coinciden con los obtenidos en esta experiencia (Muñoz, 1993). En el caso de la variable longitud de raíces las medias obtenidas en estacas tratadas sin RCV fue de 5,39cm mientras que con RCV fue de 4,11cm (Fig. 7). Para la variable brotación también hubo una diferencia a favor del tratamiento sin RCV con una media de 39,26% y con RCV fue de 29,41% (Fig. 8). A diferencia de lo que ocurre en muchas otras especies el tratamiento con regulador de crecimiento vegetal no sería necesario. En esta experiencia su aplicación no

fue exitosa, quizás porque la concentración ensayada no fue suficiente o pudo ser fitotóxica. O bien porque el nivel de auxinas endógenas de las estacas sería lo suficientemente alto para garantizar su enraizamiento.

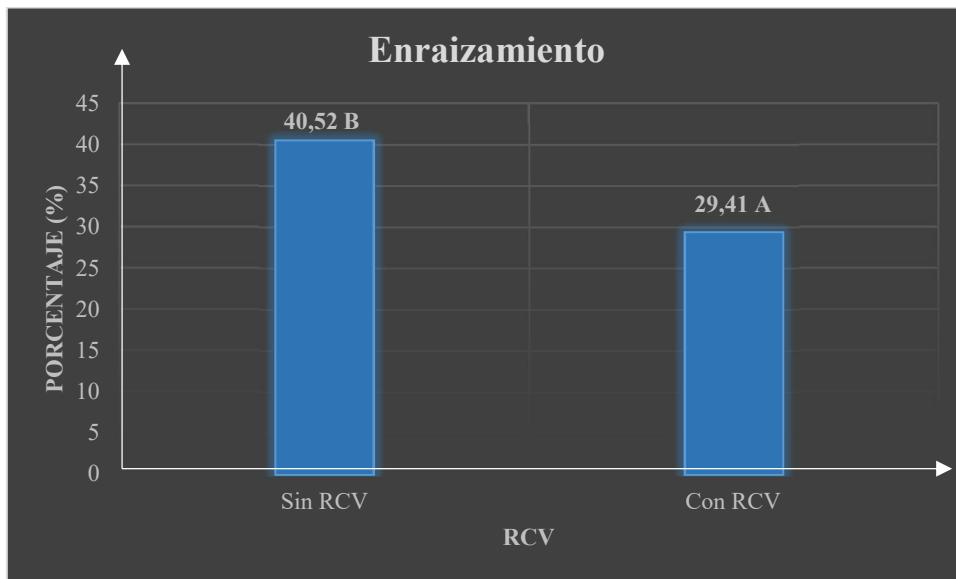


Figura 6: Medias obtenidas para la variable enraizamiento para el factor regulador de crecimiento vegetativo.

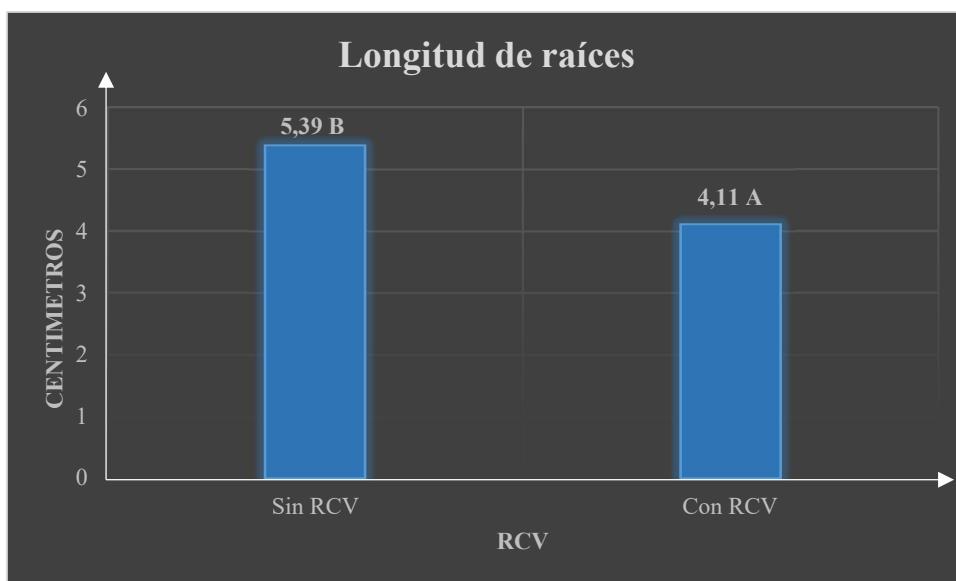


Figura 7: Medias obtenidas para la variable longitud de raíces para el factor regulador de crecimiento vegetativo.

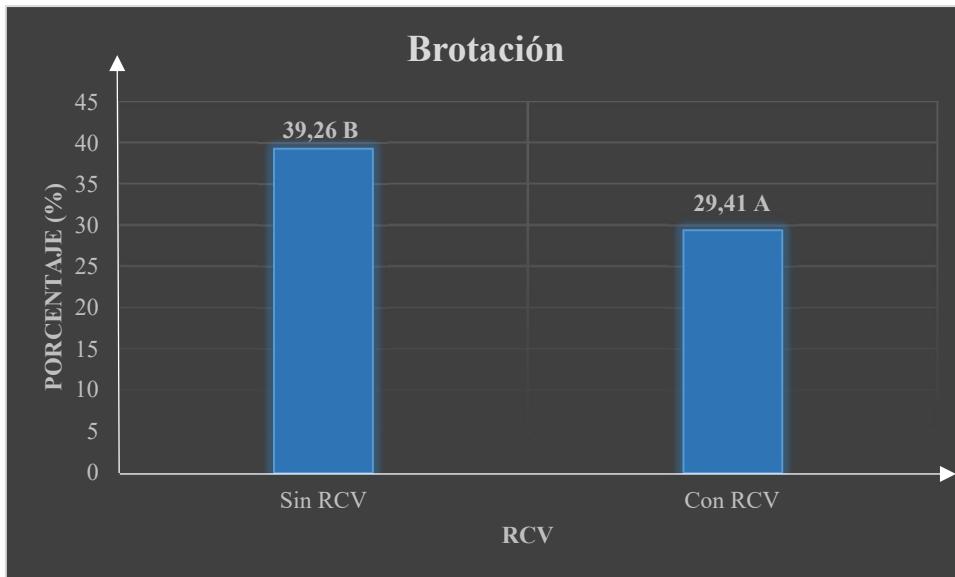


Figura 8: Medias obtenidas para la variable brotación para el factor regulador de crecimiento vegetativo.

Para el FACTOR SUSTRATO hubo diferencias significativamente mayores a favor del nivel arena para todas las variables estudiadas. En cuanto al porcentaje de enraizamiento las estacas tuvieron una media de 68,22% con respecto al sustrato comercial con sólo 16,50% y el sustrato suelo con 20,17% (Fig. 9). En numerosos trabajos de investigación y numerosas especies medicinales el sustrato arena ha sido siempre el más eficaz para el enraizamiento, tal es el caso de *Salvia officinalis* (Lemes Hernández *et al.*, 2000), *Catharanthus roseus* (Dirchwolf y Schroeder 2015) e *Hybanthus calceolaria* (Pereira Da Silva *et al.*, 2011). La longitud de raíces también fue significativamente superior en este sustrato, la media obtenida fue de 6,47cm, casi el doble de lo obtenido en los otros sustratos (Fig. 10).

Con respecto al número de raíces obtuvimos el triple de raíces en el nivel arena (Fig. 11). Por último el porcentaje de brotación también fue muy superior (66,33%) (Fig. 12).

El hecho de que el sustrato arena haya sido más conveniente para el desarrollo radical, probablemente se debió a la mayor humedad de los tejidos de las estacas, debido a que éstos no se encontraban lignificados, lo que favoreció a la iniciación del proceso de rizogénesis. La porosidad del sustrato permitió a su vez un buen drenaje y la suficiente aireación en la base del esqueje (Hartman *et al.*, 2002, Miralles y Garaulet 2005).

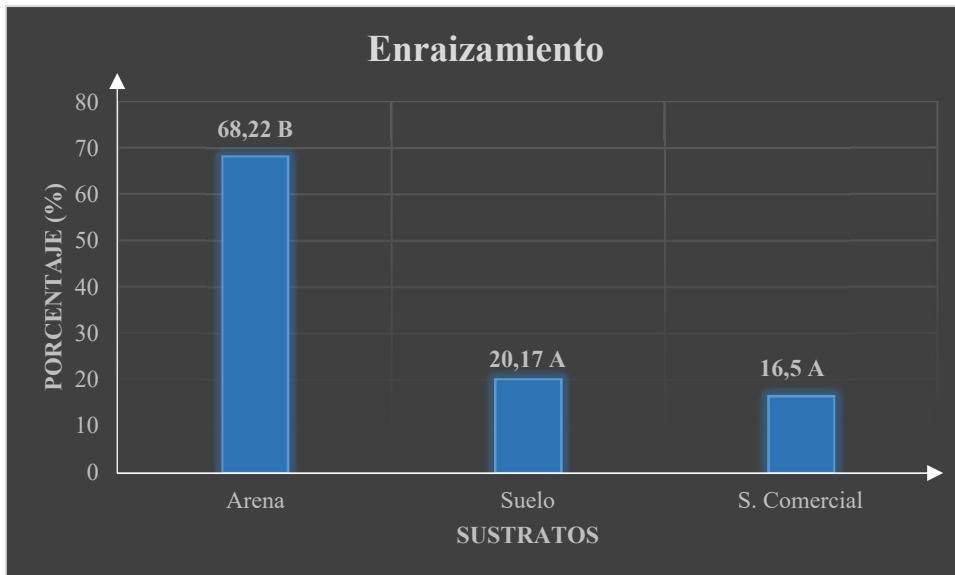


Figura 9: Medias obtenidas para la variable enraizamiento para el factor sustrato.

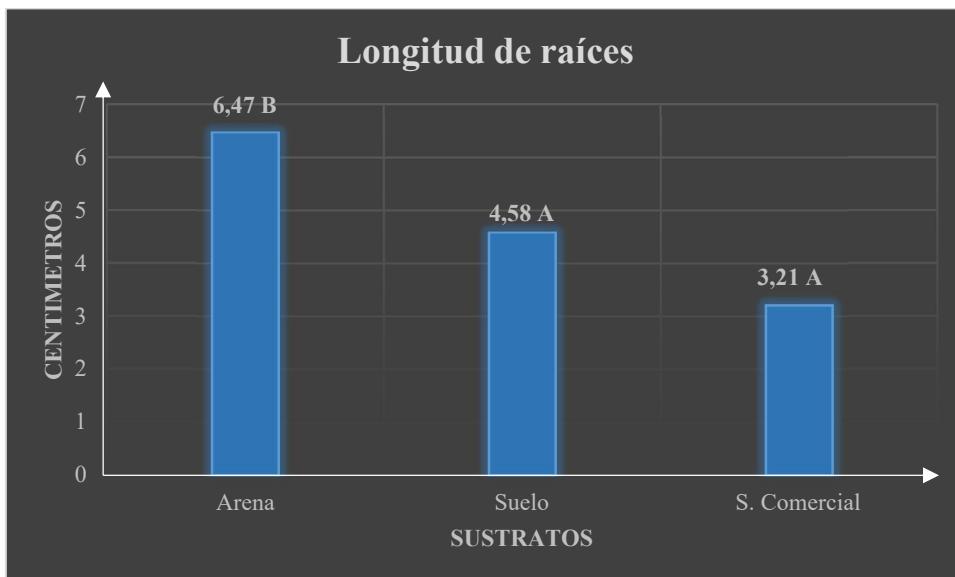


Figura 10: Medias obtenidas para la variable longitud de raíces para el factor sustrato.

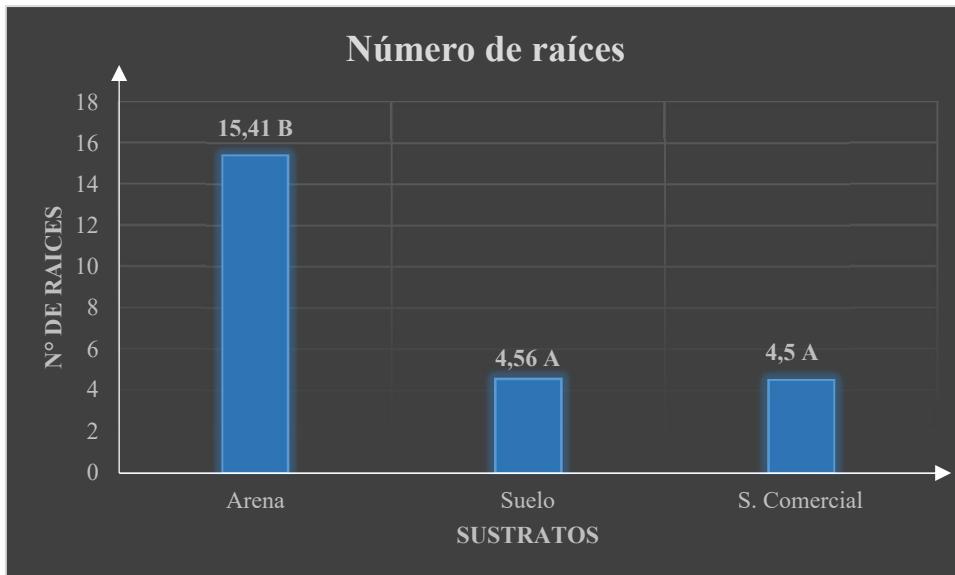


Figura 11: Medias obtenidas para la variable número de raíces para el factor sustrato.

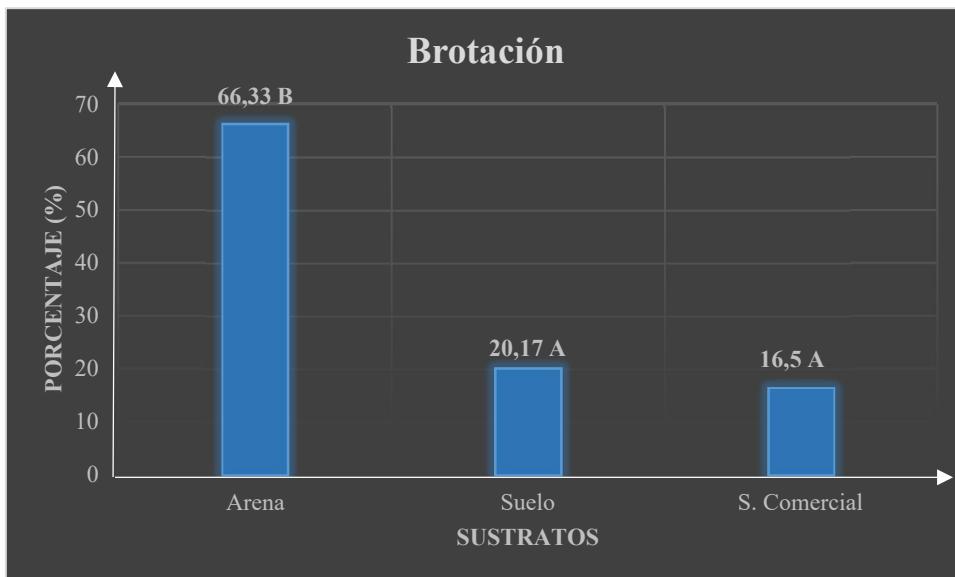


Figura 12: Medias obtenidas para la variable brotación para el factor sustrato.

El FACTOR ESTACA arrojó diferencias significativas para las cuatro variables estudiadas a favor del nivel estacas intermedias. El porcentaje de enraizamiento obtenido para las estacas intermedias (47,78%), fue casi el doble de las terminales (27,61%) (Fig. 13). Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Toth *et al.*, (2013), quienes concluyeron que para *Plectranthus ornatus* se deben seleccionar estacas de la parte media de la planta madre, aunque difieren de los de Lemes Hernández *et al.*, (2000), quien encontró que las estacas terminales de *Salvia officinalis* son las más apropiadas para obtener los mayores porcentajes de enraizamiento.

Para la variable longitud de raíces la media obtenida para las estacas intermedias fue de 7,14cm, mientras que para las estacas basales fue de 3,44cm y para las terminales fue de 3,68cm (Fig. 14). Con respecto al número de raíces también se obtuvieron medias más altas para las estacas intermedias (Fig. 15).

El porcentaje de brotación también fue significativamente diferente a favor de las estacas intermedias, obteniéndose el 47,78%, mientras que en las basales el 29,44% y para las terminales 25,78% (Fig. 16). Resultados que también coinciden con los de Toth *et al.*, (2013), donde el mayor porcentaje de yemas brotadas de *Plectranthus ornatus* se obtuvo en las estacas intermedias. El factor determinante de esta respuesta podría asociarse a que las estacas terminales de *A. polystachya* son muy tiernas y más susceptibles a la deshidratación pos plantación, los que se tradujo en un alto porcentaje de pérdidas por este motivo.

Así mismo, la normal lignificación de los tejidos en la parte basal podría interferir, demorando la emergencia de las raíces en las estacas basales (Hartmann *et al.*, 2002).

Aunque con los tres tipos de estacas ensayadas fue posible su reproducción vegetativa.

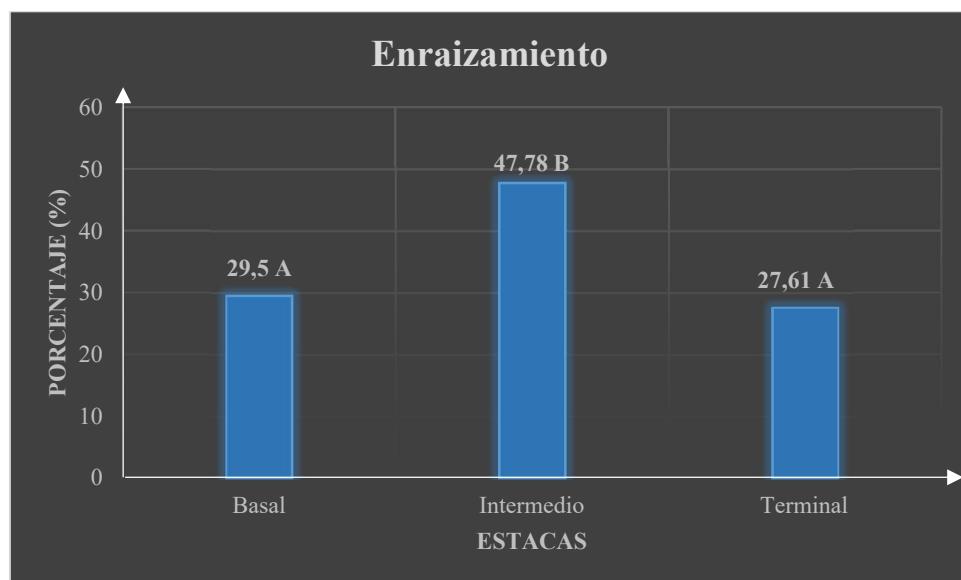


Figura 13: Medias obtenidas para la variable enraizamiento para el factor estaca.

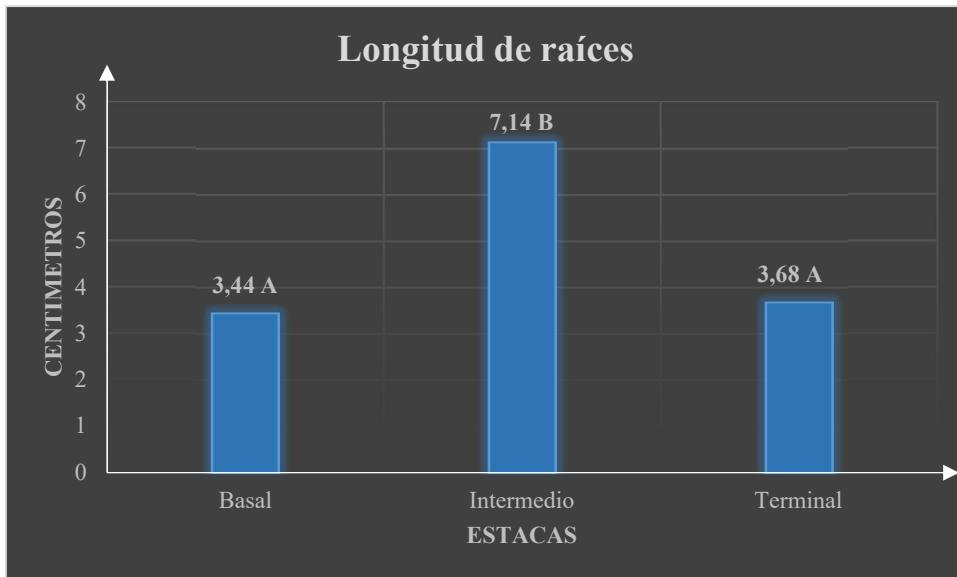


Figura 14: Medias obtenidas para la variable longitud de raíces para el factor estaca.

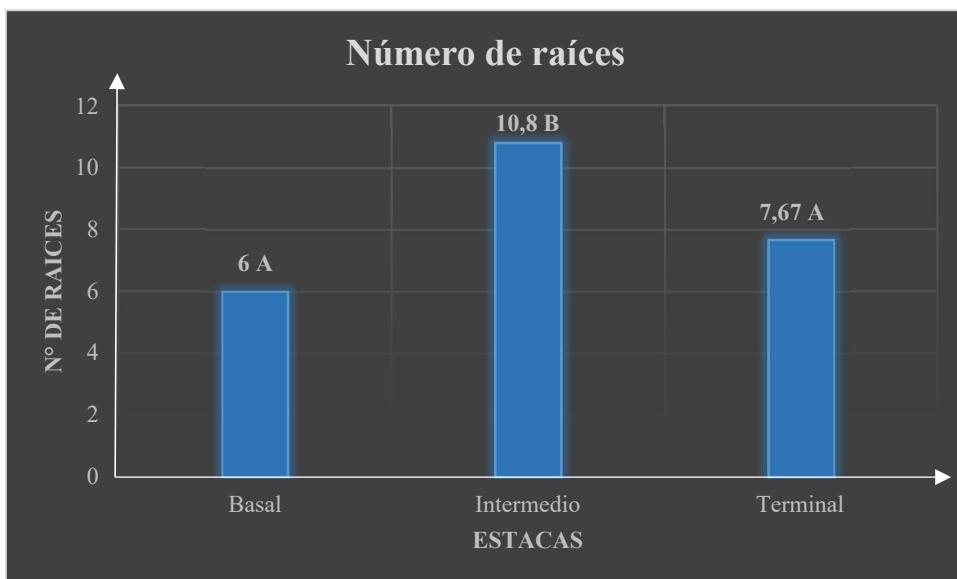


Figura 15: Medias obtenidas para la variable número de raíces para el factor estaca.

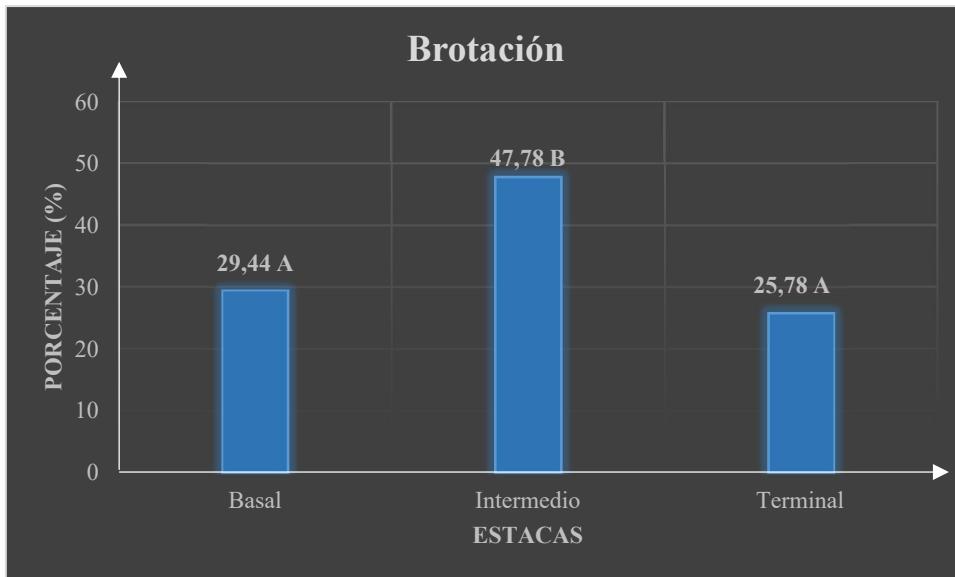


Figura 16: Medias obtenidas para la variable brotación para el factor estaca.

Pudimos observar que hubo interacción entre los factores SUSTRATO y REGULADOR DE CRECIMIENTO VEGETATIVO para las variables porcentaje de enraizamiento, números de raíces y porcentaje de brotación. Así, las estacas que no fueron tratadas con RCV en el sustrato arena las que enraizaron en mayor proporción llegando al 81,22% de enraizamiento, lo que representó más del triple de enraizamiento que en los otros sustratos (Fig. 17). Las estacas que se encontraban en el sustrato arena hayan sido tratadas o no con RCV fueron las que presentaron un mayor número de raíces (Fig. 18). En cuanto al porcentaje de brotación observamos que los niveles arena y estacas no tratadas con RCV fueron los que tuvieron porcentajes mayores significativos alcanzando el 77,44% de estacas brotadas, casi el triple de las restantes combinaciones (Fig. 19).

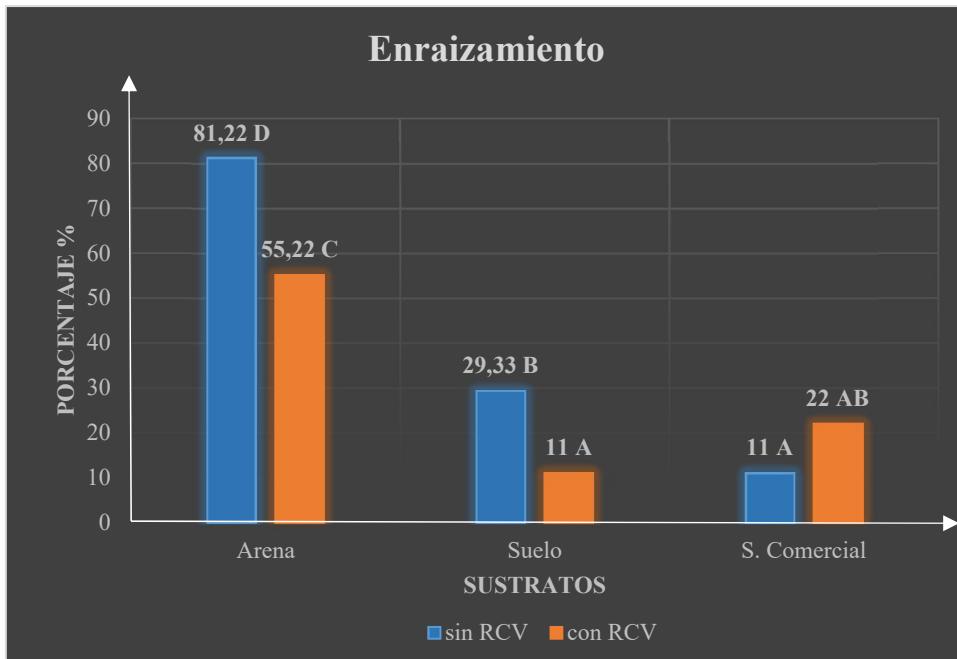


Figura 17: Medias obtenidas para la variable enraizamiento en la interacción de los factores sustrato y regulador de crecimiento vegetativo.

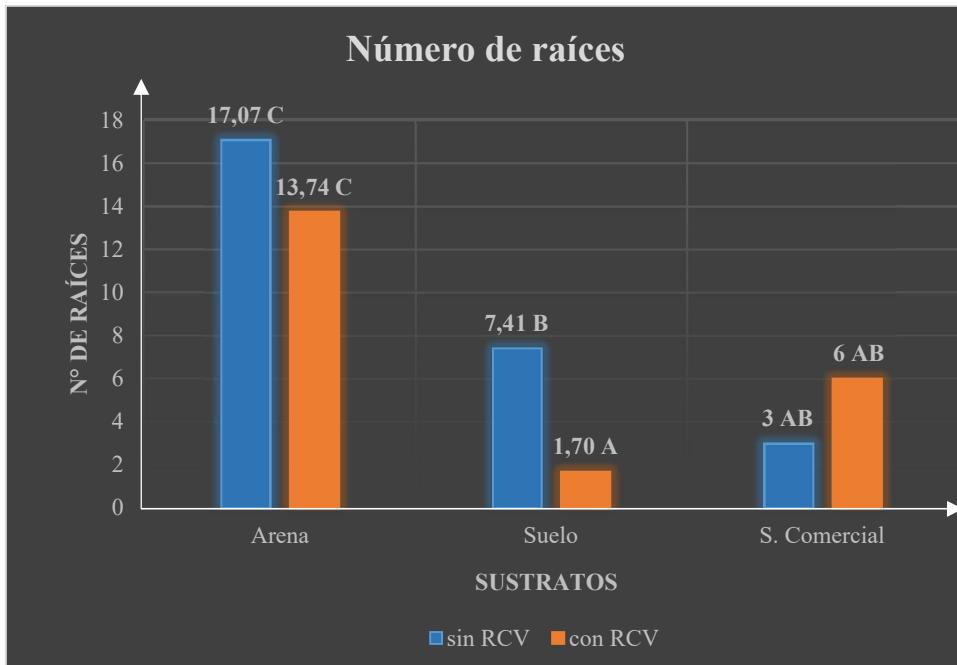


Figura 18: Medias obtenidas para la variable número de raíces en la interacción de los factores sustrato y regulador de crecimiento vegetativo.

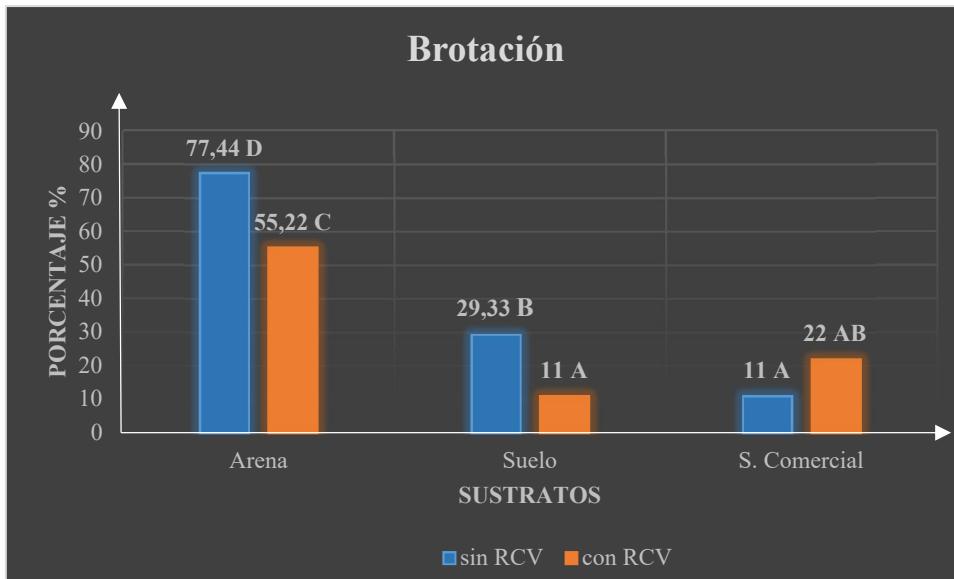


Figura 19: Medias obtenidas para la variable brotación en la interacción de los factores sustrato y regulador de crecimiento vegetativo.

También encontramos interacción entre los factores SUSTRATO y tipo de ESTACAS para la variable número de raíces. La combinación del nivel arena con cualquiera de los niveles de estacas favoreció formación de una cabecera radicular con un mayor número de raíces (Fig. 20).

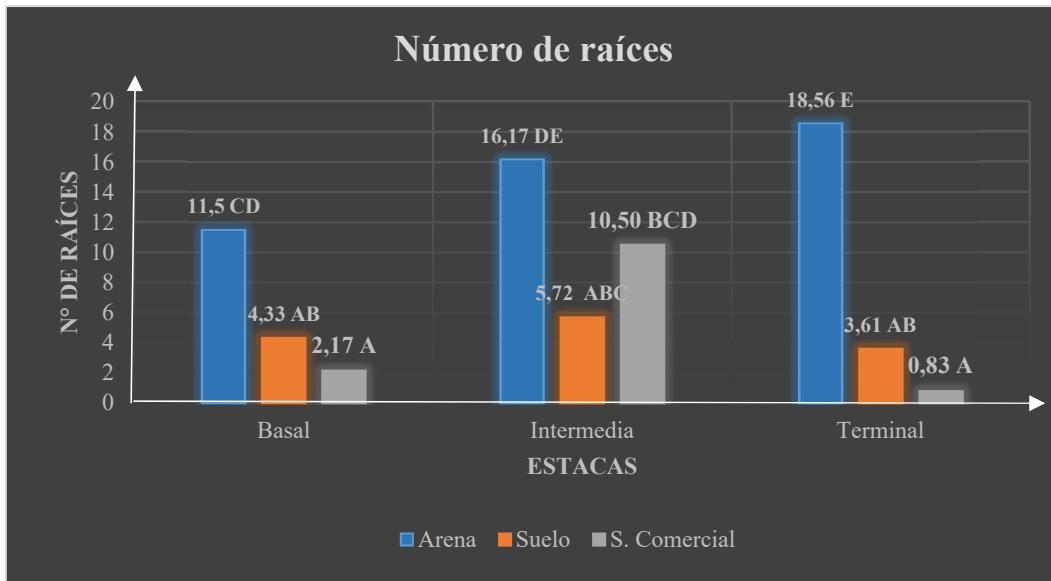


Figura 20: Medias obtenidas para la variable número de raíces en la interacción de los factores estaca y sustrato.

Por último hubo interacciones entre el factor ESTACA y el factor REGULADOR DE CRECIMIENTO VEGETATIVO sólo para la variable brotación. La combinación del nivel estacas intermedias y los niveles con y sin RCV fueron los que tuvieron los mayores porcentajes de brotación llegando al 51,44% y 44% de estacas brotadas respectivamente (Fig. 21).

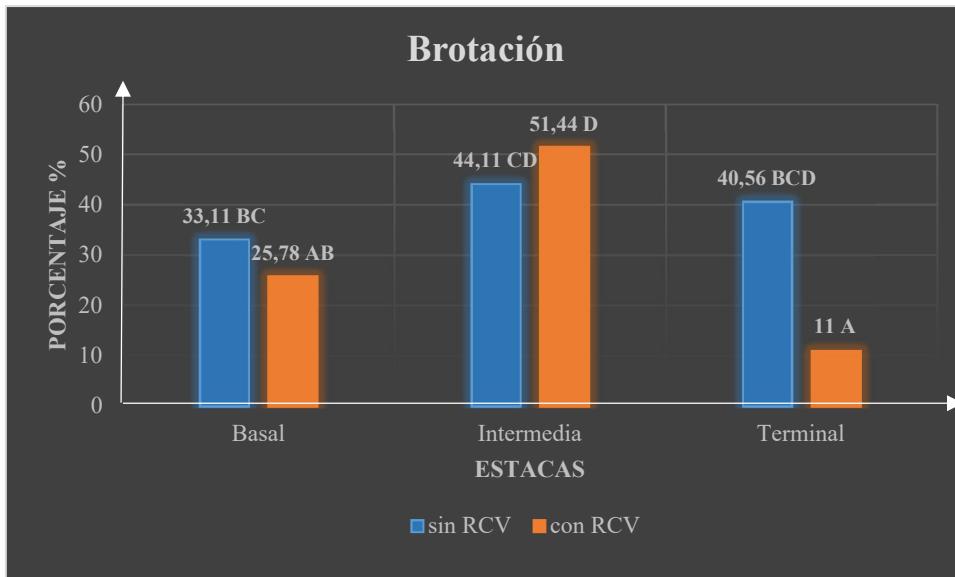


Figura 21: Medias obtenidas para la variable brotación en la interacción de los factores estaca y regulador de crecimiento vegetativo.

Los datos de las interacciones dobles de los factores analizados para las distintas variables se encuentran detallados en la tabla en ANEXO I.

No se observaron triples interacciones entre los factores estudiados para ninguna de las variables evaluadas.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos en esta experiencia nos permiten afirmar que la propagación vegetativa por estacas de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke es posible, obteniendo en forma económica, rápida y simple plantas en cantidad suficiente para su producción comercial.

El tipo de estaca más adecuada para propagar asexualmente a *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke es la intermedia, y el sustrato más conveniente el arenoso.

La aplicación del regulador de crecimiento vegetativo utilizado en la dosis ensayada no favoreció el incremento del número de estacas enraizadas.

Bibliografía:

- **Aguado M.; Nuñez; M-Dudik; H.-Bela; A-Raisman J.; Sansberro P. 2006.** Diseño de comprimidos de extracto de extracto de *Aloysia polystachya* por compresión directa. Acta Farmacéutica Bonaerense. 25 (2): 225-230 pp.
- **Benzi V.; Sanchez Chopa C.; Ferreno A. 2009.** “Comparación del efecto insecticida de dos especies de *Aloysia* (Verbenaceae sobre *Rhyzopertha dominica*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas medicinales y Aromáticas, (2), 151-153 pp.
- **Berardi A. B. 2012.** Etnofarmacología gastrointestinal de plantas medicinales argentinas del género *Aloysia*, familia Verbenaceae : mecanismos de acción y relación con los principios activos. - 1a ed. - La Plata: Universidad Nacional de La Plata, E-Book. ISBN 978-950-34-0861-2. 79 pp.
- **Burdyn L.; Luna C.; Tarragó J.; Sanberro P.; Dudit N.; Gonzalez A.; Mroginsky L. 2006.** “Direct shoot regeneration from leaf and internode explants of *Aloysia polystachya* (Gris.) Mold. (Verbenaceae). In Vitro Cell. Biol-Plant: 42:235-239 pp.
- **Carlos I.C.C.; Pessoa M.T.F.C & Siqueira R.L.C.L. 2000.** Registro de medicamentos fitoterápicos. Fortaleza: Secretaría Saude do Est. Do Ceará. p. 37.
- **Consolini A.; Berardi Andrea Beatriz; Rosella M.; Volonté M. 2011.** Antispasmodic effects of *Aloysia polystachya* and *A. gratissima* tinctures and extracts are due to non-competitive inhibition of intestinal contractility induced by acetylcholine and calcium. Rev. Bras. Frmacogn. 21 (5): 15-23 pp.
- **Dirchwolf P.M.; Schroeder M.A. 2015.** Establecimiento de un método de propagación vegetativa para *Catharanthus roseus* (L.).Rev. Cubana de Plantas Medicinales 20 (2): 17-22 pp.
- **Di Rienzo J.A.; Casanoves F.; Balzarini M.G.; Gonzalez L.; Tablada M.; Robledo C.W. 2012.** Infostat, versión 2012. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- **Fester G.; Martinuzzi EA.; Retamar JA.; Ricciardi AI. 1961.** Academia Nacional de Córdoba. 81 pp.
- **Fretes F. 2010.** Plantas medicinales y aromáticas una alternativa de producción comercial. Informe del Programa Paraguay Verde. 60.
- **Gutierrez F.; Stefanazzi N.; Murray A.; Ferrero A. 2008.** Bioactividad de extractos de hojas de “*Aloysia polystachya*” (Verbenaceae) en alervas y adultos de “*Tribolium castaneum*” Hernts (Coleoptera: Tenebrionidae). Boletín de sanidad vegetal. Plagas, ISSN 0213-6910. 34 (4): 501-508 pp.
- **Hartmann H.; Kester D.; Davies F.; Geneve R. 2002.** Plant propagation. Principles and Practices. 7th Edition Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey. 437 pp.

- **Hellión Ibarrola M.C.; Ibarrola D.A. 2008.** The antidepressant-like effects of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae) in mice. *PHYTOMEDICINE* Volume: 15 Issue: 6-7. 478-483 pp.
- **Lemes Hernández C.M.; Rodríguez Ferradá C.A.; Echevarría I. 2000.** Establecimiento de un método de propagación vegetativa para *Salvia officinalis* L. *Rev Cubana Plantas Medicinales* 5(1):10-3 pp.
- **López A.E.; Burgos A.M.; Cenóz P.J. 2008.** Incidencia de un regulador de crecimiento y del sustrato sobre la multiplicación agámica de *Ocimum selloi* Benth. *Horticultura Argentina* 27(62): 11-15 pp.
- **Martínez G. J. 2005.** Recolección y Comercialización de Plantas Medicinales en el Departamento Santa María, Provincia de Córdoba, Argentina. 105 pp.
- **Martínez Croveto R. 1981.** Plantas utilizadas en medicina en el N.O. de Corrientes. Miselánea 69. Fundación Miguel Lillo. 11 pp.
- **Mattos S.H. 2000.** Estudos fitotécnicos da *Mentha arvensis* L. var. piperacens Holmes como produtora de mentol no Ceará. (Tesis Doctoral) UFC. Fortaleza. 98 pp.
- **Miralles O.B.; Garaulet IC. 2005.** Las relaciones agua-planta. En: Santa Olalla Mañas, F.M.; López Fuster, P.; Calera Belmonte, A. Agua y Agronomía. Editorial Mundi-Prensa Libros SA. 304 pp.
- **Mora S.; Diaz-Véliz G.; Millán R.; Lungenstrass H.; Quiróz S.; Coto-Morales T.; Hellión-Ibarrola M. 2005.** Anxiolytic and antidepressant-like effects of the hydroalcoholic extract from *Aloysia polystachya* in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. Oct; 82 (2): 373-8 pp.
- **Mulgura De Romero M.E. 2002.** Vervenáceas, en: Zuloaga, F.O., Morrone, O. (ed.) Catálogo de Plantas Vasculares de la República Argentina II Dicotiledoneas Mongr. Sist. Bot. Missouri Bot.Garden 74: 1136 – 1170 pp.
- **Muñoz F. 1993.** Plantas Medicinales y Aromáticas, Estudio, Cultivo y Procesado. Madrid, España. Edit. Mundi-Prensa. 365 pp.
- **Parodi L. R. 1959.** Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería, volumen I. “Descripción de las plantas cultivadas”. ACME S.A.C.I. Buenos Aires. 931 pp.
- **Pereira da Silva R.C.; Silveira S.S.; Barbosa Cohelo M.F. 2011.** Propagación vegetativa de Ipea branca (*Hybanthus calceolaria* (L.) Schulz – Menz- Violaceae) utilizando diferentes sustratos. *Rev. Verde. Brasil.* 6(3):186-191 pp.
- **Ratera E.L. y Ratera M.O. 1980.** Plantas de la flora Argentina empleadas en medicina popular. Ed. Hemisferio Sur. Bs. As. Argentina: 189 pp.
- **Schroeder M.A.; López A.E.; Delceggio E.X.N.; Cenóz P.J. 2007.** Efecto de la fertilización con N-P-K sobre el rendimiento y las concentraciones foliares en *Aloysia polystachia* (Griseb) Moldenke. *Horticultura Argentina* 26(60): 25-29 pp.
- **Schroeder M.A.; Popoff O.F. 2012.** Especies Vegetales de Uso Medicinal. Una alternativa a los cultivos tradicionales. Ed. Académica Española. ISBN 978-3-659-01264-8. 137 pp.
- **Schroeder M.A. y Velozo L.E. 2014** - Reproducción vegetativa de *Cordia curassavica* (María Negra) *Horticultura Argentina* 33(81): 37-43 pp.
- **Soil Survey Staff. 1990.** Keys to Soil Taxonomy By Survey Staff. SMSS Technical Monograph Nº 6 Fourth Edition. Blacesburg, Virginia. USA. 422 pp.

- **Toth M.G.; Burgos A.M.; Cenóz P.J.** 2013. Multiplicación agámica de *Plectranthus ornatus* por medio de estacas. Horticultura Argentina 32(79):25-31. ISSN de la edición on line 1851-9342.
- **Werdin Gonzalez J.; Gutierrez M.; Murray A.; Ferrero A.** 2010. Biological activity of essential oils from *Aloysia polystachya* and *Aloysia citridora* (Verbenaceae) against the soybean pest *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) Nat. Prod. Commun. 5 (2): 301-6.
- **Zoghbi M.G.B.; Andrade E.H.A.; Santos A.S.; Silva N.H.L. & Maia J.G.S.** 1998. Essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. growing wil in the brazilian amazon. Flavour and Fragance Journal. 113 (1): 47-48.
- **Zumelzú G.; Darré C.; Novo R.** 2000. “Control de malezas en té de burro *Lippia polystachia* Griseb. Con herbicidas pre y post emergentes”. Anales de SAIPA- Sociedad Argentina para la inestigacion de Productos Aromáticos. IX Congreso Nacional de Recursos Naturales Aromáticos y Medicinales. Córdoba XVI: pp. 91-96.

ANEXO I

- Interacciones dobles de los factores analizados para las diferentes variables:

| VARIABLE | FACTORES | | SUSTRATO | | | ESTACA | | |
|----------------------|----------|--------------|----------|--------|--------------|---------|------------|----------|
| | | | Arena | Suelo | S. Comercial | Basal | Intermedia | Terminal |
| % ENRAIZAMIENTO | RCV | SIN | 81,22D | 29,33B | 11A | 36,89BC | 44,11C | 40,56C |
| | | CON | 55,22C | 11A | 22AB | 22,11AB | 51,44C | 14,67A |
| | SUSTRATO | Arena | - | - | - | 72D | 77,33D | 55,33CD |
| | | Suelo | - | - | - | 11AB | 33BC | 16,50AB |
| | | S. Comercial | - | - | - | 5,50A | 33BC | 11AB |
| VARIABLE | FACTORES | | SUSTRATO | | | ESTACA | | |
| | | | Arena | Suelo | S. Comercial | Basal | Intermedia | Terminal |
| LONGITUD RAÍCES (cm) | RCV | SIN | 7,09B | 6,82B | 2,28A | 3,98A | 7,14B | 5,07AB |
| | | CON | 5,86B | 2,33A | 4,15AB | 2,91A | 7,13B | 2,30A |
| | SUSTRATO | Arena | - | - | - | 4,94ABC | 8,07C | 6,41BC |
| | | Suelo | - | - | - | 3,48AB | 6,70BC | 3,55AB |
| | | S. Comercial | - | - | - | 1,92A | 6,64BC | 1,08A |

| VARIABLE | FACTORES | | SUSTRATO | | | ESTACA | | |
|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------|----------|--------|--------------|---------|------------|----------|
| | | | Arena | Suelo | S. Comercial | Basal | Intermedia | Terminal |
| N U M E R O R A I C E S (nº) | R C V | SIN | 17,07C | 7,41B | 3AB | 36,89BC | 44,11C | 40,56C |
| | | CON | 13,74C | 1,70A | 6AB | 8,11AB | 10,26B | 9,11B |
| | S U S T R A T O | Arena | - | - | - | 11,50CD | 16,17DE | 18,56E |
| | | Suelo | - | - | - | 4,33AB | 5,72ABC | 3,61AB |
| | | S. Comercial | - | - | - | 2,17A | 5,72ABC | 0,83A |
| VARIABLE | FACTORES | | SUSTRATO | | | ESTACA | | |
| | | | Arena | Suelo | S. Comercial | Basal | Intermedia | Terminal |
| % B R O T A C I O N | R C V | SIN | 77,44D | 29,33B | 11A | 33,11BC | 44,11CD | 40,56C |
| | | CON | 55,22C | 11A | 22AB | 25,78AB | 51,44C | 11A |
| | S U S T R A T O | Arena | - | - | - | 66,33D | 77,33D | 55,33CD |
| | | Suelo | - | - | - | 11AB | 33BC | 16,50AB |
| | | S. Comercial | - | - | - | 11AB | 33BC | 5,50A |