

**BIOTECNOLOGÍA Y BIODIVERSIDAD.  
Diálogos de saberes**

**Marina Adema et al.  
Compilado por Sandra Sharry e Iselén Trujillo  
2018**

**308 páginas**

**Capítulo 7: pp 173-209**

## ***La biotecnología como herramienta para la conservación y el cuidado de la biodiversidad de las especies aromático-medicinal nativas***

Jesica Iannicelli<sup>ad</sup>; Julián Guariniello<sup>a</sup>; Patricia Peralta<sup>a</sup>; Sandra Pitta-Álvarez<sup>bc</sup> y Alejandro Salvio Escandón<sup>a</sup>.

<sup>a</sup>Instituto de Genética “Ewald A. Favret”, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

<sup>b</sup>Laboratorio de Cultivo Experimental de Plantas y Microalgas, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, No. 68, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>c</sup>Instituto de Micología y Botánica (INMIBO), Universidad de Buenos Aires-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>d</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET).

### **Introducción.**

Desde mucho antes de los comienzos de su historia, la humanidad recurrió al Reino Vegetal para abastecerse de alimentos y medicina. De hecho la historia de nuestra civilización comienza con la domesticación de algunas especies vegetales y la aparición de la agricultura (en este punto, dado el abrupto cambio cultural que sufrieron tanto el *Homo sapiens* y las especies vegetales involucradas, no estaría de más preguntarse, quien domesticó a quien).

Se estima que existen alrededor de 400.000 especies vegetales, de las cuales alrededor del 12% tiene propiedades medicinales, pero sólo se cultivan unos pocos cientos de especies. Si bien son estimadas, puestas en blanco sobre negro, estas cifras activan señales de alarma sobre la situación de la gran mayoría de las plantas aromático-medicinales (PAMs) utilizadas por el hombre.

**La gran mayoría de nuestras especies nativas de PAMs están en estado salvaje, son una importante fuente de variabilidad genética, además de una invalorable y todavía inexplorada, fuente de genes.**

Siendo parte relevante de una porción de la biodiversidad, las PAMs son aquellas especies vegetales que tienen la capacidad de elaborar metabolitos secundarios (principios activos) farmacológicamente activos, que pueden ser nocivos o beneficiosos para la salud. Dentro de este grupo, las plantas estrictamente aromáticas, son aquellas cuyos principios activos son compuestos volátiles (aceites esenciales) que les confieren el aroma que las caracteriza. Estas propiedades organolépticas que confieren a las comidas y bebidas aromas, colores y sabores diferentes, que las hacen más apetitosos, sabrosos y más gratos al olfato, a la vista y al paladar, las convierte en insumos relevantes para la industria alimentaria y licorera. Se podría afirmar, entonces, que todas las plantas aromáticas son medicinales pero no todas las medicinales son aromáticas.

Estas especies vegetales tienen importancia tanto biológica como cultural y económica, por sus genes y el producto de éstos, a lo que se suma su importancia social por los saberes ancestrales, sus aplicaciones en medicina popular y por ser parte del medio de subsistencia de muchas familias. En este contexto, es importante resaltar que muchas de estas especies no son producidas, sino que son extraídas directamente de la naturaleza. Parecería que 5.000 años de civilización todavía no lograron modificar nuestro cerebro que, en el fondo, sigue siendo el de un cazador/recolector... y no podemos resistirnos a servirnos de la madre naturaleza.

El gran problema para las plantas silvestres es que en los últimos años el incremento de la demanda provocó una recolección indiscriminada de estos recursos (Pathak y Abido, 2014). En la Argentina por ejemplo, décadas atrás la cadena productiva de las PAMs era muy simple y acotada. Los recolectores de la zona levantaban los “yuyos” como una forma extra de subsistencia, para vender a turistas y a una incipiente industria de herboristería. Esta forma de recolección, hecha con manos expertas, se llevaba a cabo en forma armónica con la naturaleza, respetando los tiempos de la planta, tomando solo la parte aérea y, en caso de haber semillas, sacudiendo las ramas para distribuir la simiente y permitir su germinación y, en consecuencia, la propagación de la especie. Pero, con el tiempo, aparecieron otros intereses, de mayor peso comercial, se sumaron la industria licorera, la yerbatera y la alimentaria, incrementando significativamente la demanda y creció la figura del acopiador; este intermediario compra, fijando precio, a los pequeños productores/recolectores y vende a granel a la industria. Lo que antes era la alforja de un burro, pasó a ser un carro, luego un camión y, con el correr del tiempo, varios camiones. En la actualidad, en muchos lugares, se recolecta de forma desaprensiva utilizando un “rolo” de metal que arranca todo de raíz, en forma indiscriminada y deja el monte arrasado. Si a esto le sumamos la quema de campos para la ganadería, el turismo y los negocios inmobiliarios, el destino de las PAMs se advierte como muy poco promisorio y todo hace pensar que este escenario se repite en todo el mundo.

En nuestra región de Latinoamérica y el Caribe, existen una gran cantidad de especies aromático-medicinales, de hecho algunos de los países que la conforman están considerados como megadiversos, por lo que pretender abarcar todas las especies sobrepasa holgadamente los alcances de este capítulo. Se tomaron sólo algunas especies para dar una idea aproximada de cuál es el cuadro de situación en el que se encuentran las PAMs en general y cuáles son los avances que se realizaron (o no) en la aplicación de técnicas biotecnológicas sobre las mismas. Si bien el criterio de selección utilizado fue arbitrario, se consideraron algunas especies poco conocidas y con usos potenciales inexplorados, tomando como premisa que la mejor forma de defender nuestros recursos genéticos es conociéndolos y llevando a cabo un aprovechamiento racional y sustentable de los mismos.

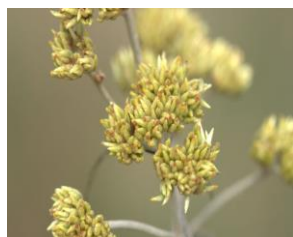
En este capítulo se tomaron 11 especies diferentes de PAMs y se muestra una revisión de sus usos populares, sus potenciales aplicaciones, sus correspondientes estados de conservación, y el grado de aplicación de las herramientas biotecnológicas para la propagación, conservación y/o mejoramiento de las mismas.



Tomado de Elechosa (2009).

***Acantholippia seriphioides* (A. Gray) Moldenke** (*Verbenaceae*) (tomillo andino, tomillo del campo o tomillo serrano), es un arbusto aromático de 30-60 cm que habita en Chile, Bolivia y la Argentina (Catálogo de Plantas Vasculares del Cono Sur, 2017), sobre suelos áridos, limosos o pedregosos hasta los 1.000 m de altura. En la medicina popular, las infusiones de partes aéreas se usan como digestivos y diaforéticos. Las etnias mapuche y tehuelche la combinan con otras especies, como *Mentha spp*, para tratar la gripe (González y Molares, 2004). También se emplea para aromatizar y sazonar (Barboza et al., 2009). Elechosa (2009), identificó cuatro quimiotipos: dos fenólicos (timol y carvacrol), dihidrocarvona y geraniol-citral. El quimotipo thymol y carvacrol mostraron efectos acaricidas en *Varroa destructor* (Ruffinengo et al., 2005). Además, los aceites esenciales microencapsulados mostraron resultados muy prometedores para el control de este ácaro sin afectar a las abejas melíferas (Ruffinengo et al., 2014). Por otro lado, la infusión analizada de esta especie mostró una significativa actividad antioxidante (Gastaldi et al., 2016).

Aunque se enfrenta a la extinción debido al extractivismo, solo encontramos un informe preliminar sobre su propagación a través del cultivo de tejidos (Boeri et al. 2017).



Tomado de Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (2017).

***Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC.** (*Asteraceae*), (marcela macho, vira-vira) se encuentra en Brasil, Paraguay, Uruguay, y en el noreste y noroeste de Argentina (Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, 2017). Sus usos populares son como antiespasmódico, antioxidante, estimulante y febrífugo, así como emenagogo (Barboza et al., 2009). Los principios activos de sus partes aéreas también son similares a los encontrados en *A. saturoioides*: ácido cafeico y clorogénico, quercetina y metoxiflavonas. Es importante resaltar el hecho de que *A. flaccida* es la única especie del género *Achyrocline* con derivados epoxi-butoxi, los cuales son compuestos poco comunes (ver la revisión de Broussalis et al., 1989). También se estudió su aceite esencial, y los principales compuestos identificados fueron  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -cariofileno (Retta et al., 2008). En cuanto a la bioactividad de los extractos acuosos, se demostró actividad antiviral *in vitro* sobre el virus del herpes simple tipo 1 (García et al., 1999 y 1995).

Se la utiliza a partir de extracción directa del ambiente, dado que comparte hábitat con *A. satureioides*, aparece frecuentemente como contaminante (Retta et al., 2010).

Con respecto a la biotecnología, se han desarrollado protocolos de cultivo *in vitro* para la obtención de metabolitos secundarios, tanto en medios sólidos (Bonnecarrère et al., 2009) como en medios líquidos en biorreactores (Ross y Castillo, 2010). Sin embargo, estos informes se citan como trabajos preliminares para la mejora de las tasas de multiplicación y futuros experimentos centrados en la producción de metabolitos secundarios a partir de suspensiones celulares y no pudimos encontrar avances de estos trabajos. Con respecto a los marcadores moleculares, se ha informado sobre el uso de ISSR para el análisis genético de esta especie (Da Rosa, 2015).



Tomado de Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (2017).

***Adesmia boronioides* Hook. f. (Fabaceae)** (paramela). Es un arbusto endémico andino-patagónico de Argentina y Chile, que alcanza alturas de entre 40 cm y 2 m (Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, 2017). Su infusión es utilizada como digestiva y para tratar síntomas respiratorios (Kutschker et al., 2002). Es una especie muy reconocida por las comunidades mapuches, quienes resaltan su uso como antireumática, digestiva, antitusiva y circulatoria (Molares y Ladio, 2008). Se la cita también como analgésica y emenagoga (Rondina et al., 2008). Entre sus principios activos se destacan sus altos niveles de porfirinas (Estomba et al., 2012) y sus aceites esenciales cuyos principales componentes son  $\alpha$ -pineno, esquelenona,  $\delta$ -cadineno, isoesquelenona y 1-epi-cubenol (González et al., 2004); estos autores resaltan que el agradable olor de las resinas presentes en las partes aéreas sugiere su utilidad para la industria de las fragancias. En cuanto a la bioactividad, su infusión y sus aceites esenciales han demostrado actividad antioxidante, siendo mayor la de sus aceites (Gastaldi et al., 2016).

Debido al régimen extractivista al cual se encuentra sometida, esta especie está en riesgo, por lo que existe un gran interés en su conservación y propagación. Se ha reportado su micropropagación, estudiándose la producción de porfirinas en estas condiciones (Estomba et al., 2012).

***Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae)** (burrito), es un arbusto de 0,6 a 2,0 m de altura, flores blancas y de pequeño tamaño, habita en Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay, Uruguay y Argentina (Catálogo de Plantas Vasculares del Cono Sur, 2017). Crece en suelos limosos desde el nivel del mar hasta los 2.000 m de altura. Es muy utilizada en la medicina popular y en la herboristería por sus propiedades medicinales, la infusión de las hojas y flores, se utiliza contra dolores de estómago, trastornos hepáticos, digestiones lentas, empachos,



Tomado de Elechosa (2009).

acidez, náuseas y vómitos. Hay referencias que indican una muy interesante potencialidad de esta planta para su aplicación como cultivo para la industria farmacéutica ya sea como eupéptico, carminativo y sedante (Helli6n-Ibarrola et al., 2008 y Mora et al., 2005) como pediculicida (Tolozza et al., 2005); asimismo mostr6 una interesante actividad contra el cole6ptero *Rhizopertha dominica*, plaga que afecta a los granos en la etapa de poscosecha (Benzi et al, 2010) y como repelente frente a *Aedes aegypti* (Gleiser et al., 2011). Adem6s, ha mostrado actividad antibacteriana contra diferentes cepas de *Staphylococcus*, *Enterococcus* y *Enterobacter* (Aguado et al., 2012). Elechosa (2009) determin6 en la Argentina, la existencia de dos poblaciones definidas por sus quimiotipos, el Tipo 1 con un alto contenido de carvona, acompa6ado de limoneno; y el Tipo 2 que presenta como componente destacado a la  $\alpha$ -tuyona, acompa6ado de  $\beta$ -tuyona. Las propiedades digestivas y carminativas se atribuyen a la presencia de carvona (Burdyn et al., 2006). Sin embargo, la  $\alpha$ -tuyona se menciona como una neurotoxina animal (Millet, 1981). No hay informes sobre su fracci6n no vol6til.

Existen referencias sobre el cultivo experimental de "burrito" en las provincias argentinas de C6rdoba (Manero de Zumelz6, 2000), Jujuy (Zampini et al., 2003) y Entre R6os (Aguado et al., 2003), y en Paraguay (G6mez Insfr6n, 2004). A pesar de la existencia de estos informes, no encontramos referencias en la literatura sobre el cultivo y domesticaci6n del "burrito" y generalmente se cosecha del ambiente (Mart6nez, 2005).

Con respecto al uso de t6cnicas biotecnol6gicas, solo se encontr6 un art6culo que menciona la propagaci6n *in vitro* (Burdyn et al., 2006). Por otra parte, se hall6 un reporte donde se describe el uso de estas pl6ntulas micropropagadas para la fabricaci6n de tabletas a partir de extractos pilulares (Aguado et al., 2006). No se encontraron m6s informes sobre el uso de otras estrategias biotecnol6gicas para el mejoramiento gen6tico, como la transg6nesis o la poliploidizaci6n.



Tomado de Cat6logo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (2017).

***Baccharis latifolia*** (*Asteraceae*) (algodoncillo, chilca). Es un arbusto de r6pido crecimiento que puede alcanzar 2 m de altura y hasta 3 de ancho, abundante en Sudam6rica: Bolivia, Ecuador, Argentina, Uruguay, Chile y Colombia (Cat6logo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, 2017; Barboza et al. 2009). La especie es muy utilizada en la medicina popular, a saber: se recurre a la infusi6n de las hojas como antidiarreico, vulnerario, resolutivo, antiflatulento, t6nico amargo, antidiab6tico y en el tratamiento de inflamaciones, dolor de est6mago e insomnio. La decocc6n se emplea para el tratamiento de reumatismo, des6rdenes hep6ticos, tos, bronquitis, 6lceras y en caso de par6sitos intestinales. Externamente, la planta se

emplea en forma de cataplasma para casos de luxaciones, heridas, dolores reumáticos y hematomas, tiene una importante actividad antiinflamatoria (Prada et al. 2016; Salcedo Ortiz y Almanza, 2011; Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales, 2008). El análisis metabolómico mostró la presencia de fenoles y flavonoides de capacidad antioxidante (Prada Muñoz, 2015). Con relación a los aceites esenciales se detectaron los siguientes compuestos: germacreno D,  $\alpha$ -tuyeno,  $\alpha$ -pineno y limoneno (Barboza et al., 2009), y se han evaluado sus actividades antifúngicas y antibacterianas contra diferentes cepas (Valarezo et al., 2013).

No se han encontrado referencias sobre domesticación/mejoramiento, así como tampoco la aplicación de biotécnicas.



Tomado de: Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (2017).

***Buddleja cordobensis* Griseb.** (*Buddlejaceae*) (palo blanco, salvialora, pulmonaria, salvia de la hora, salviablanca), endémica de Argentina (Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, 2017). Popularmente consumida en infusiones para el tratamiento de afecciones bronquiales, como antigripal, antitusivo, para la congestión (Arias Toledo, 2009; Menseguez et al., 2007). Entre sus principios activos se han citado al óxido de cariofileno,  $\beta$ -cariofileno y  $\alpha$ -copaeno como componentes mayoritarios en sus aceites esenciales, sobre los cuales se determinó la actividad anti virósica frente a los virus de dengue, Junín y herpes simplex tipo 1 (Duschatzky et al., 2005). Sobre otro de sus principios activos, el iridoide catalpol, se encontró que ejerce una fuerte inhibición contra taq ADN polimerasa (Garro et al., 2015).

Esta especie ha sido señalada como en estado vulnerable (Vischi et al., 2004) y no se encontraron referencias en cuanto a su cultivo ni al uso de herramientas biotecnológicas.



Tomado de Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (2017).

***Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze** (*Lamiaceae*) (muña-muña, sin. *Satureja parviflora*), es un arbusto aromático de hasta 2 m de altura, originaria del noroeste de Argentina, Bolivia y Chile, crece desde los 1.200 hasta los 4.000 m de altura (Elechosa, 2009). La medicina popular le atribuye a sus partes aéreas propiedades antioxidantes, digestivas, analgésicas, antiespasmódicas (calidades óptimas para la fabricación de bebidas sin alcohol), laxantes, emenagogas, afrodisíacas; facilitadoras del parto y aliviadoras de los dolores post-parto (Barboza et al., 2009 y Rondina et al., 2008). Se determinó la existencia de diferentes quimiotipos según estudios de sus aceites esenciales en diversas poblaciones de la Argentina: piperitona-óxido de piperitona, terpinen-4-ol, pulegona, isocitral, acetato de carvacrilo-carvacrol (Juárez et al., 2012). En cuanto a la fracción no volátil, de los compuestos polifenólicos, el ácido rosmarínico y la luteolina fueron la más abundantes (Cabana et al., 2012). Sus hojas, además, son muy requeridas por su potencial

antifúngico, antiparasitario y antioxidante. Estudios de laboratorio demostraron actividad antimicrobiana *in vitro* frente a varias especies de *Staphylococcus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Salmonella* sp (Feresin et al., 2000), además de actividad antiparasitaria frente a protozoos (van Baren et al., 2006). Asimismo, se ha estudiado su actividad antioxidante en relación a la composición de su aceite esencial (Barbieri et al., 2015).

La producción proviene en su totalidad de la recolección silvestre. Figura entre las especies mencionadas como presionadas por sobre recolección (Alonso y Desmarchelier, 2015). Aún así, no se encontraron referencias que hablen del cultivo y de aplicación de biotécnicas sobre esta especie de la que, como se indicó antes, algunas poblaciones se encuentran en riesgo de extinción.



Tomado de Elechosa (2009).

***Hedeoma multiflorum* Benth** (*Lamiaceae*), (peperina de las lomas, tomillo de las sierras, tomillo serrano). Habita en el sur de Brasil, Uruguay y la Argentina, crece hasta los 1000 m sobre el nivel del mar. Es una planta xerofítica que crece en lomas secas y pedregosas (Elechosa, 2009). Está presionada en su hábitat natural por la sobre explotación producto de un sistema comercial netamente extractivo y

sin pautas de manejo que garanticen su propagación, unido al hecho de su pequeño tamaño, a su restricción a suelos calcáreos y a que, difícilmente rebrota luego de incendios, situaciones que colocan a esta especie en peligro de extinción (Menseguez et al., 2007; Martínez, 2005). Se la aprecia por sus propiedades digestivas, carminativas y analgésicas para dolores de cabeza y reumáticos (Arias Toledo, 2009; Rondina et al., 2008). Los principales destinos de estos recursos son para las procesadoras de yerba mate compuesta ya que principalmente se la consume en infusiones, en amargos y aperitivos, para herboristería y laboratorios de productos medicinales (Juliani et al., 2007; Menseguez, et al., 2007; Martínez, 2005). Los componentes principales de su aceite esencial son pulegona, isomentona y mentona (Fernández et al., 2007). Además, teniendo en cuenta el contenido de polifenoles (ácido cafeico, clorogénico y rosmarínico) y su actividad antioxidante *in vitro* (Dadé et al., 2011 y 2009), la especie es un excelente recurso que podría ser utilizada como herramienta farmacológica y nutricional.

Si bien no se encontraron reportes sobre el cultivo de *Hedeoma*, se verificó la existencia de trabajos de micropropagación (Peralta et al., 2017; Díaz et al., 2010; Brunetti, 2007) así como de estudios para su macropropagación (Martínez, 2005). Pero no se hallaron reportes de la aplicación de otras biotécnicas como transformación genética o poliploidización para su mejoramiento, siendo una especie a la cual, por su situación ecológica, se le debería prestar más



atención. Martínez y Fernández (2000a and 2000b) sostienen la necesidad de la difusión y el reemplazo paulatino del sistema de recolección extractivo por una producción de la especie.



Tomado de: Missouri Botanical Garden (2017).

***Peumus boldus* Molina. (Monimiaceae)** (boldo). El "boldo" es un árbol de tamaño mediano endémico en Chile (Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, 2017), que puede alcanzar alturas superiores a 15 m. La planta está muy valorada en medicina popular por sus propiedades curativas, y las infusiones preparadas a partir de sus hojas se utilizan para tratar trastornos estomacales y hepáticos, ya que se lo conoce como

hepatoprotector, digestivo, colerético, colagogo y antiinflamatorio (Lanhers et al., 1991). En la América precolombina, los mapuches lo empleaban para "tratar el reumatismo y las dislocaciones". Hace más de un siglo, el "boldo" se encuentra incluido en las farmacopeas de algunos países europeos, lo que permitía su uso en la medicina oficial (Vogel et al., 2007). Los principios activos encontrados en "boldo" fueron la boldina, isoboldina, laurotetanina, laurólitsina; flavonoides, especialmente catequina; y aceites esenciales: ascaridol, 1,8-cineol, linalol, terpineol, limoneno, terpinen-4-ol y alcanfor (Quezada et al., 2004; Vogel et al., 1997). Los extractos hidroalcohólicos presentaron actividad hepatoprotectora, y el alcaloide boldina fue aparentemente el responsable de esa actividad (Lanhers et al., 1991), mientras que los extractos acuosos mostraron una importante actividad antioxidante y captadora de radicales libres, debido a la presencia de catequinas (Schmeda-Hirschmann et al., 2003). Sin embargo, los extractos hidroalcohólicos y la boldina tuvieron efectos abortivos y teratogénicos y se informaron cambios en los niveles sanguíneos de bilirrubina, colesterol, glucosa, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa y urea en ratas (Rodrigues de Almeida et al., 2000).

En cuanto a los usos biotecnológicos, se ha establecido un protocolo de micropropagación para esta especie (Ríos et al., 2010), y se ha patentado un método para extraer los principios activos de yemas *in vitro* (Zúñiga, 2013). Las relaciones filogenéticas de la familia *Monimiaceae* se estudiaron con marcadores moleculares utilizando las secuencias de la subunidad ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa (rbcL) y los espaciadores tRNA no codificados (Renner et al., 1998).

En Chile, principal productor de "boldo", todas las hojas utilizadas para su producción provienen de árboles silvestres. Sin embargo, en su hábitat natural, la explotación del "boldo" está regulada legalmente (Pinilla y Parra, 2011; Vogel et al., 2007).



Tomado de: Missouri Botanical Garden (2017).

***Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae)** (stevia, ka'a he'ë), es nativa de Paraguay (Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur,

2017), y es un ejemplo claro y paradigmático de la mala gestión y explotación de recursos en nuestra región, donde Paraguay, y particularmente la población Guaraní, perdió el germoplasma en los años 70 con la industria edulcorante japonesa (Delgado Jiménez, 2016). Actualmente, el uso principal es como un edulcorante natural (Durán et al., 2012), y hay muchas marcas en el mercado que usan esta especie.

Los estudios preclínicos y clínicos sugieren que la "stevia" tiene muchas aplicaciones farmacológicas y terapéuticas, como agente hipoglucemiante, antioxidante, antimicrobiano, antifúngico y anticanceroso (ver revisiones Gupta et al., 2013). Se han aislado e identificado más de 100 compuestos, y los más estudiados son los que constituyen una combinación compleja natural de ocho glucósidos de diterpenos, presentes en las hojas y responsables del sabor dulce, incluidos el isosteviol, esteviósido, rebaudiósidos (A, B, C, D, E, F), esteviolbesida y dulcósido A. Los principales metabolitos son el esteviósido y el rebaudiósido A, que son 250 a 300 veces más dulces que la sacarosa. Ambos compuestos son termo y pH-estables y no fermentables. Por estas razones, la "stevia" es uno de los principales sustitutos de la sacarosa y también posee potencial como promotor de la salud. Junto con su dulce sabor, la "stevia" también presenta sabor amargo debido a algunos aceites esenciales, taninos y flavonoides (Gupta et al., 2013).

Debido al valor económico, real y potencial, de la "stevia", hay una gran cantidad de publicaciones que tratan sobre aplicaciones biotecnológicas, particularmente el cultivo de tejidos y la reproducción de la especie (ver reseña Kumar et al., 2011). Existen varios informes sobre su micropropagación, con diferentes condiciones y técnicas (Oviedo-Pereira et al., 2015). La cultura del callo se ha desarrollado para producir esteviósido (Karuppusamy, 2009; Dheeranapattana et al., 2008). Una de las estrategias utilizadas para aumentar la producción de principios activos es la generación de autotetraploides (Yadav et al., 2013; Li et al., 2012). También se informaron protocolos de transformación genética a través de *A. tumefaciens* (Khan et al., 2014); y también se han realizado estudios de variabilidad genética con ISSR (Garro-Monge et al., 2014).

Finalmente, esta especie se cultiva y existen pautas disponibles para desarrollar su cultivo (Manual de cultivo de la Stevia Para Agricultores).



Tomado de: Atlas de Maleza  
INTA (2017).

***Tagetes minuta* L.** (*Asteracea*) (chinchilla, huacatay, suico, suique, chil chil), es originaria de Sudamérica, y habita en Chile, Bolivia, Perú, Paraguay y el centro y norte de Argentina (Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, 2017). En Argentina, el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) lo considera como una maleza

importante para los cultivares anuales de verano y las pasturas (Atlas de Malezas INTA, 2017); sin embargo, su importancia como planta medicinal va en aumento en todo el mundo (Juliani et al., 2007). En medicina popular, se usa como antimicrobiano, antihelmíntico, diurético y antiespasmódico. También se emplea como digestivo, carminativo y antiabortivo. La infusión preparada con las hojas se usa para aliviar dolores gástricos y las flores y hojas frescas se usan en decocciones para aliviar resfriados y bronquitis. Su aceite esencial, muy valioso en perfumería y aromaterapia, se extrae de sus hojas (Rondina et al., 2008; Tereschuk et al., 1997). Sus principios activos son esencialmente flavonoides (quercetagenin y sus glucósidos quercetagenin-7-arabinosyl-galactósido, quercetagenin-3-arabinosyl-galactósido, quercetagenin-7-glucósido, patuleína y patuleína-7-glucósido) y aceites esenciales, cuyos quimiotipos están constituidos principalmente por  $\beta$ -ocimene y  $\beta$ -ocimenone (tagetenona). Tanto los flavonoides como los aceites esenciales extraídos de las hojas mostraron actividad antibacteriana y antifúngica, respectivamente, que se encuentran entre sus principales usos populares (Tereschuk et al., 1997; Zygadlo et al., 1994).

Si bien en Argentina se considera una maleza, particularmente en cultivares de soja y maíz, existen referencias en blogs sobre su cultivo en Perú (<http://ecosiembra.blogspot.com.ar/2011/08/cultivo-de-huacatay.html>). En México, la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) menciona su cultivo en este país, pero advierten sobre su potencial para convertirse en hierba debido a la similitud de climas con otras regiones (CONABIO, Malezas de Mexico, 2009).

En cuanto a la implementación de biotecnologías, se ha introducido *in vitro* y se ha multiplicado por regeneración indirecta y micropropagación (Mohamed et al., 2000 y 1999). También se ha informado sobre el uso de marcadores moleculares de RAPD (Shahzadi et al., 2010). No se encontraron referencias sobre la reproducción de esta especie.

### ***Lippia integrifolia* (Griseb.) Hier. Incayuyo var. Tawa-INTA. Nuestra propuesta de ideas y estrategias para la conservación de la biodiversidad**

Las herramientas de la biotecnología moderna están siendo cada vez más aplicadas para la caracterización de la diversidad genética del germoplasma en general y del vegetal en particular y, sin lugar a dudas, tienen un rol importante a cumplir tanto en la asistencia a los programas para la conservación vegetal y como también a los de mejoramiento, usados como complemento de los primeros. En este contexto, es importante comprender que la integración de la biotecnología con los programas de conservación requiere de la interacción de múltiples y

variadas áreas, por lo que habría que considerar, la inclusión de profesionales de diferentes disciplinas y expertisias.

Partiendo de la premisa propuesta previamente: que la mejor forma de conservar y sentar soberanía sobre un recurso genético, es profundizar nuestro conocimiento sobre el mismo y propiciar su aprovechamiento sustentable, nuestro grupo de trabajo se propuso, como estrategia para la preservación del recurso, desarrollar germoplasma nativo, obtener nuevas variedades a partir del material silvestre, mejorando su productividad de metabolitos secundarios y ofrecerlo como alternativa para que sea producido por cultivo en vez de extraerlo de la naturaleza, comenzando por *Lippia integrifolia* (Griseb.) Hier. (Iannicelli, 2016a). Si bien en la Argentina son varias las especies con poblaciones en peligro de extinción, la elección de esta especie se basó en la fuerte presión a la que está sometida debido la demanda que existe por parte de la industria yerbatera, licorera y herboristería

*L. integrifolia* (Gris.) Hier. (también conocida como "incayuyo" o "té del inca", Figura 1), es un arbusto aromático de 1 m de altura, que crece en el noroeste y centro de la Argentina en las zonas cercanas a los Andes (Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, 2017).



Figura 1. Planta madre de incayuyo bajo condiciones de invernáculo estándar. Tomado de Iannicelli, J. (2016a) Tesis doctoral.

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales es quizás la herramienta biotecnológica más utilizada, especialmente para la propagación en gran escala de plantas (Escandón et al., 2010), pero también, ajustando ciertos aspectos del protocolo es posible aplicarla como una herramienta para el mejoramiento vegetal. En efecto, haciendo las combinaciones adecuadas de hormonas vegetales, es posible generar variabilidad genética a través del cultivo de tejidos. Asimismo, es posible amplificar este fenómeno exponiendo los explantos a la acción de agentes mutagénicos, como la colchicina, que duplican la cantidad de cromosomas y, de esta manera, es posible incrementar las cantidades de metabolitos secundarios por gramo de tejido (Iannicelli et al., 2016b).

Basándonos en esa premisa se propuso a través de la aplicación de colchicina, bajo condiciones de cultivo *in vitro* obtener nuevas variedades de "incayuyo", con mayor número de cromosomas, a fin de disponer de una planta con una mayor capacidad de síntesis de aceites esenciales, con un aroma diferente y más intenso que el de la planta original.

La planta, originaria de la Provincia de La Rioja, Argentina, fue seleccionada por sus características aromáticas, fue puesta bajo condiciones de invernáculo y se la multiplicó por estacas para disponer de la cantidad suficiente de material clonal (Figura 2).



Figura 2. Enraizamiento de estacas del genotipo seleccionado de *L. integrifolia* para introducir a cultivo *in vitro*. a) Estacas iniciales. b) Estacas enraizadas al cabo de 30 días. c) Estacas desarrollando en invernáculo estándar. (Tomado de Iannicelli, J. (2016a) Tesis doctoral).

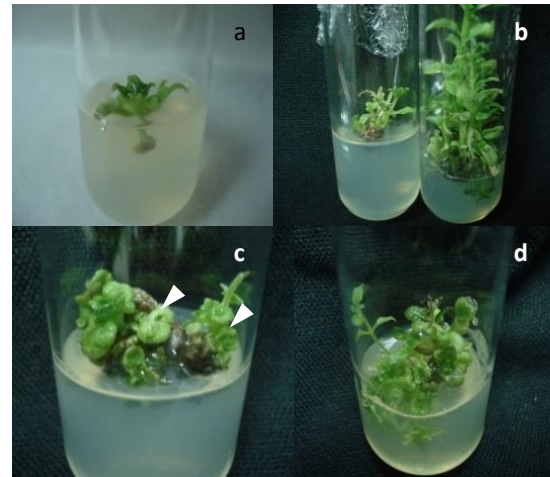
Los explantos utilizados (porciones de la planta original) fueron entrenudos, los cuales se desinfectaron y establecieron en condiciones *in vitro*, para luego ser multiplicados a partir del empleo de la bencil-amino purina (BAP) como promotor del crecimiento vegetal (Iannicelli et al., 2016c) (Figura 3).

Figura 3. Secuencia del cultivo *in vitro* de incayuyo. a) Brote cultivado *in vitro*, el rectángulo rojo indica el material tomado como explanto para el ensayo con diferentes concentraciones de BAP. b) Multibrotaciones desarrolladas en los diferentes tratamientos con BAP al cabo de 45 días de cultivo. c) Brotes aislados a partir de un explanto del tratamiento 2.2  $\mu$ M de BAP. d) Brotes enraizados y elongados. e) Plántulas bajo cámara húmeda en proceso de aclimatación. f) Plantas aclimatadas creciendo bajo condiciones de invernáculo. (Tomado de Iannicelli, J. (2016a) Tesis doctoral).



Con el ciclo de cultivo de tejidos concluido, se procedió a la aplicación de colchicina, también en condiciones *in vitro* (Figura 4) (Iannicelli et al. 2016b). De esta forma se obtuvieron autotetraploides, es decir individuos que duplicaron su número de cromosomas, y por lo tanto, su cantidad de material genético.

Figura 4. Cultivo de explantos de *L. integrifolia* en medio de multiplicación con el agregado de colchicina. a) Explanto inicial. b) Comparación del desarrollo de un explanto tratado con colchicina (izquierda) y un explanto sin tratar (derecha), ambos en medio de multiplicación libre de colchicina, a los 40 días. c) Las flechas señalan brotes incipientes. d) Brotes desarrollados en medio luego del tratamiento con colchicina, tras 60 días de cultivo (Tomado de Iannicelli, J. (2016a) Tesis doctoral).



Una vez confirmada la existencia de una población de tetraploides entre las plantas *ex vitro* recuperadas del tratamiento con colchicina, se inició la caracterización fenotípica de éstos y su comparación con los individuos diploides (individuos que conservaron su número de cromosomas original).

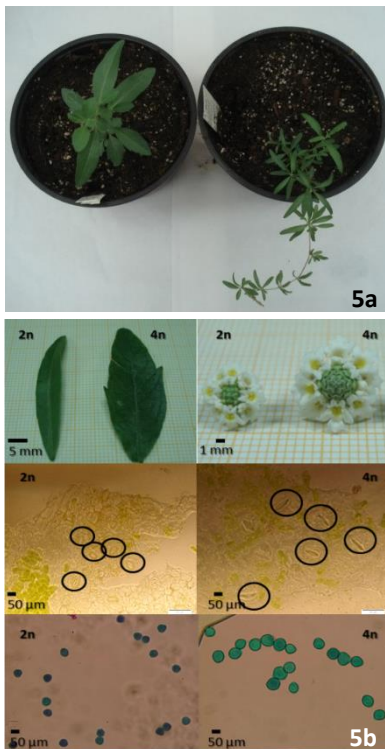


Figura 5. a) Plantas *ex vitro* desarrollándose bajo condiciones de invernáculo estándar. A la izquierda se observa una tetraploide y a la derecha una planta control. b) Comparación de hojas, inflorescencias, estomas y granos de polen entre diploides y tetraploides. (Tomado de Iannicelli, J. (2016a) Tesis doctoral).

La Figura 5a muestra la diferencia en el porte de la tetraploide (izquierda) y un control diploide (derecha). Estas diferencias en el aspecto de las plantas se hicieron más notorias cuando se pudieron comparar, en plantas adultas, los tamaños de hojas, flores estomas y granos de polen (Figura 5b).

Finalmente se comparó la **producción de aceites esenciales** entre los individuos diploides y tetraploides. La extracción de aceites esenciales se llevó a cabo por destilación con arrastre de

vapor. Si bien se observó variabilidad en la producción de aceites, todos los tetraploides produjeron significativamente más que los diploides. Estos resultados se pueden ver resumidos en la Tabla 1.

Como corolario de este trabajo, el individuo que mostró la mayor capacidad de síntesis de aceite fue inscripto en el INASE como una nueva variedad de incayuyo al que se la denominó: Tawa (significa cuatro en Quechua) INTA, con número de registro: 15679 y fecha de inscripción el 6 de Julio de 2015 (Figura 7).

RENDIMIENTOS (%V/P)					
PM	T	DC	CB	C s/B	Q
2,9	3,7	3,0	3,0	3,1	3,3
	4,4	2,9	2,9	2,9	3,0
	4,7	3,1	3,0	3,0	2,9
	3,9	3,0	2,9	2,9	2,9
	3,6	2,1			
	3,5	2,7			
	4,1	3,1			
	3,5	2,9			
	3,6				
	3,6				
	3,9				
	3,7				
	3,9				

Tabla 1. Diferencias en la producción de aceites entre la planta madre y las diferentes poblaciones de plantas *ex vitro* recuperadas. PM: planta madre. T: tetraploides. DC: diploides recuperados del tratamiento con colchicina. CB: Controles tratados con BAP. C s/B: Controles sin BAP. Q: quimeras. (Tomado de Iannicelli, J. (2016a) Tesis doctoral).



Figura 6. Aspecto de Tawa-INTA con relación a la planta original (izquierda). Tawa INTA florecida (derecha). (Tomado de Iannicelli, J. (2016a) Tesis doctoral).

### Una reflexión final

El cuidado de la biodiversidad es una tarea global, que nos debería comprometer a todos, así como el uso y aprovechamiento sustentable de las especies aromáticas/medicinales nativas es, a

todas luces, un trabajo multidisciplinario, que requiere la intervención de la etnobotánica, la ecofisiología, la química, la farmacología, la agronomía, la biotecnología, el trabajo social de los extensionistas, economistas y de políticos. La etnobotánica haciendo un trabajo de prospección, clasificando inequívocamente desde lo botánico, estudiando el uso de las especies y tomando registro del origen social de estos saberes (a fin de proceder según el Convenio de Biodiversidad), los ecofisiólogos determinando los hábitos de crecimientos, la fisiología, el nicho ecológico que ocupa la especie y su situación en cuanto al riesgo de extinción. La química y la farmacología analizando sus metabolitos secundarios, sus propiedades químicas, biológicas y farmacológicas. Desde la agronomía y la biotecnología estudiar la mejor forma el desarrollo de la tecnología apropiada para su cultivo. Los extensionistas asistiendo a los pequeños productores para facilitar la adopción del cultivo propiciando el cambio de paradigma extractivista por el productivo. Economistas y políticos generando acciones que propongan la optimización de la cadena productiva/comercial y que se fomente la producción sustentable a través de medidas como desgravaciones impositivas, acceso a subsidios o créditos blandos, etc. Asimismo, es muy relevante que se tomen medidas para proteger el germoplasma silvestre creando zonas “santuario” donde la recolección este prohibida o regulada siguiendo las normas de las buenas prácticas de recolección y que el estado ejerza su poder de policía para que la normativa sea respetada.

Con la acción concertada y coordinada de un equipo de trabajo de esta naturaleza será muy posible revertir el cuadro en el que se encuentran algunas de estas especies. En ese sentido, el aporte que se puede hacer desde la biotecnología es más que relevante, ya sea a través de métodos de propagación y analizando la variabilidad genética disponible en el germoplasma en apoyo de programas de mejoramiento o interviniendo directamente en el mejoramiento, como en el caso de incayuyo.

En nuestro equipo de trabajo, formado por farmacéuticos, agrónomos, químicos, biólogos y bioquímicos, nos propusimos como estrategia, aprovechando la estructura del INTA, obtener genotipos mejorados respecto de la planta silvestre con el objetivo de ofrecer esos materiales a los recolectores/productores y empezar de a poco con el trabajo de los extensionistas y de los programas sociales de INTA y de las Universidades nacionales involucradas, es necesario trabajo de concientización para cambiar la cultura extractivista por la productiva. Pero atención, el punto débil de nuestra propuesta es que se precisa un Estado que normatice/regule la extracción y nos asista en la tarea extensionista, controlando la situación del monte y las acciones clandestinas como el uso del rolo para la recolección de las plantas y los incendios intencionales.

La revisión bibliográfica llevada a cabo para la elaboración de este capítulo y la consulta con varios colegas, nos llevó a la conclusión que esta situación de precariedad del germoplasma de las PAMs es similar en toda la región del Caribe y América del Sur. En este escenario sería



conveniente aunar esfuerzos de los países de la región en función de rescatar el germoplasma en peligro, estudiarlo, desarrollarlo y proponer un aprovechamiento racional y sustentable del mismo, a través del trabajo en redes y en el marco de organizaciones como la REDBIO.

#### Referencias

- Aguado, M.I.; Pérez Zamora, C.; Torres, T.; Vonka, C.; Bela, A.J.; Núñez, M.B. (2012). Aceites esenciales de dos Verbenáceas y su actividad antibacteriana. III Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales. Dominguezia. 28(2):60-61.
- Aguado, M.I.; Núñez, M.B.; Dudik, H.N.; Bela, A.; Raisman, J.S.; Sansberro, P. (2006). Diseño de Comprimidos de Extracto de *Aloysia polystachya* por Compresión Directa. Acta Farm. Bonaerense. 25(2): 225-30.
- Aguado, M.; Núñez, M.; Dudik, H.; Bela, A.; et al. (2003). Cultivo de *Aloysia polystachya*, obtención y propiedades físicas de sus soluciones extractivas: ensayos exploratorios. Universidad Nacional del Noreste. Proyecto de Investigación PI 594, SECyT-UNNE – CONICET.
- Alonso, J.; Desmarchelier, C. (2015). Plantas medicinales autóctonas de la Argentina. Bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud. Corpus Libros Médicos y Científicos. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 748 p.
- Alzate Tamayo, L.M.; Arteaga González, D.M. and Jaramillo Garcés, Y. (2008). Propiedades farmacológicas del Algarrobo (*Hymenaea courbaril* Linnaeus) de interés para la industria de alimentos. Revista Lasallista de Investigación, 5(2):100-111.
- Arias Toledo, B. (2009). Diversidad de usos, prácticas de recolección y diferencias según género y edad en el uso de plantas medicinales en Córdoba, Argentina. BLACPMA. 8(5): 389-401.
- Atlas de Malezas INTA. Red de Información Agropecuaria Nacional. (2017). <http://rian.inta.gov.ar/atlasmalezas/atlasmalezasportal/DetalleMaleza.aspx?pagante=CXF&idmaleza=23531> (Accessed 30 October 2017).
- Barbieri, N.; Costamagna, M.; Gilabert, M.; Perotti, M.; Schuff, C.; Isla, M.I. y Benavente, A. (2015). Antioxidant activity and chemical composition of essential oils of three aromatic plants from La Rioja province. Pharm Biol. 54 (1): 168-173. ISSN 1388-0209 print/ISSN 1744-5116 online.
- Barboza, G.E.; Cantero, J.J.; Núñez, C.; Pacciaroni, A. y Ariza Espinar, L. (2009). Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. Kurtz. 34:1-2, 7-365.
- Benzi, B.; Sánchez Chopa, C. y Ferrero A. (2010) Comparación del efecto insecticida de dos especies de *Aloysia* (Verbenaceae) sobre *Rhizopertha dominica* (Insecta, Coleoptera, Bostrichidae). Blacpma; 8 (2): 151-3.
- Boeri, P.; Romero Alvez, M.2Dalzotto, D.1y Sharry, S. (2017) Resultados preliminares del cultivo de tejidos de tomillo de monte: *Acantholippia seriphioides* (A. Gray) Moldenke. Libro de Resúmenes del XI Simposio Nacional de Biotecnología. REDBIO Argentina 2017 <http://www.redbioargentina.org.ar/simposio-2017-bahia-blanca/>
- Bonnecarrère, V.; Berná, L.; Castillo, A. (2009). Establishment of micropropagation and cell suspension culture conditions on *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. (Asteraceae). Agrociencia, 13(1):1-6.
- Broussalis, A. M., Ferraro, G. E., Gurni, A. A. and Coussio, J. D. (1989). Aspectos fitoquímicos de especies Argentinas del género *Achyrocline*. Acta Farmacéutica Bonaerense, 8: 11-16.
- Brunetti, P.C. (2007). Micropropagation of “Tomillo de las Sierras” *Hedeoma multiflorum* Benth. BLACPMA 6 (6). Especial IX Simposio Argentino y XII Simposio Latinoamericano de Farmacobotánica.
- Burdyn, L.; Luna, C.; Tarrago, J.; Sansberro, P.; Dudit, N.; Gonzalez, A.; Mroginski, L. (2006). Direct shoot regeneration from leaf and internode explants of *Aloysia polystachya* [gris.] Mold. (Verbenaceae). In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 42: 235–239.

- Cabana, R. del C.; Viturro, C.I.; Heit, C.I.; Saluzzo, L. y Vinholes, J. (2012). Avances en el estudio de *Clinopodium gilliesii* (benth.) Kuntze de la provincia de Jujuy, Argentina. III Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales Dominguezia. 28(2):71-72.
- Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur. Instituto de Botánica Darwinion. <http://www2.Darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/fa.htm> (Acceso 30 Oct 2017).
- CONABIO, Malezas de Mexico (2009). <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm> (Acceso 30 Oct 2017).
- Da Rosa, J. (2015). Estructura genética-populacional da planta medicinal *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. Baseada em marcadores ISSR. Tesis para optar el título de Magister en Cs. Biol. [http://tede.unicentro.br/tde\\_arquivos/6/TDE-2015-11-30T161930Z-398/Publico/PR%20JULIANA%20DA%20ROSA.pdf](http://tede.unicentro.br/tde_arquivos/6/TDE-2015-11-30T161930Z-398/Publico/PR%20JULIANA%20DA%20ROSA.pdf)Fas.: 11. Chapter: 1, pps: 7-13.
- Dadé, M.M.; Schinella, G.R.; Fioravanti, D.E.; Tournier, H.A. (2011). Antioxidant and cytotoxic properties of an aqueous extract from the Argentinean plant *Hedeoma multiflorum*. *Pharmaceutical Biology*. 49(6):633–639.
- Dadé, M.M.; Fioravanti, D.E.; Schinella, G.R.; Tournier, H.A. (2009). Antioxidant capacity of native plants from Traslasierra valley (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 8(6):529-539.
- De Oliveira, C.; Comunello, L.; Maciel, E.; Giubel, S.; Bruno, A.; Chiela, E.; Lenz, G.; Gnoatto, S.; Buffon, A. y Gosmann, G. (2013) The inhibitory effects of phenolic and terpenoid compounds from *Baccharis trimera* in Siha cells: differences in their activity and mechanism of action. *Molecules*: 18(9): 11022-11032.
- Delgado Jiménez, D. (2016). La Stevia, el dulce amargo de la biopiratería. <http://observadorpatentesur.blogspot.com.ar/2016/08/la-stevia-el-dulce-amargo-de-la.html>
- Dhanya, K.; Sasikumar, B. (2010). Molecular Marker Based Adulteration Detection in Traded Food and Agricultural Commodities of Plant Origin with Special Reference to Spices. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*. 4 (1):454- 489.
- Dheeranapattana, S.; Wangprapa, M.; Jatisatiennr, A. (2008). Effect of sodium acetate on stevioside production of *Stevia rebaudiana*. *Acta Hort. (ISHS)*. 786:269-272.
- Díaz, M.S.; Figueroa A.C.; Palacio L.; Goleniowski, M.E. (2010). “In vitro” *Hedeoma multiflorum* Benth propagation in response to different nutritional conditions. *Mol Med Chem*. 21: 17-20.
- Durán, S., Rodríguez, M.P.; Cordón, K.; Record, J. (2012). Estevia (*Stevia rebaudiana*), edulcorante natural y no calórico. *Rev Chil Nutr*. 39 (4): 203-206.
- Duschatzky, C.B.; Possetto, M.I.; Talarico, L.B.; García, C.C.; Michis, F.; Almeida, N.V.; Lampasona, M.; Schuff, C.; y Damonte, E.B. (2005). Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*. 16:247–251.
- Elechosa, M. (2009). Manual de recolección sustentable de plantas aromáticas nativas de la región central y noroeste de la Argentina. Ediciones INTA.
- Escandón, A. S., Marinangelli, P. A. y Pérez de la Torre, M. (2010) Avances de la Biotecnología en especies ornamentales. En: *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II*. Editorial: INTA. Eds.: V. Echenique, C. Rubinstein. Hopp, H.E. y L. Mroginski. Parte V, Capítulo 4. Págs.: 421-435.
- Estomba, D.; Fernández, H.M.; Stella, A.M. (2012). Antioxidantes y porfirinas de *Adesmia boronioides*, *Larrea divaricata* y *Atriplex lampa* cultivadas in vitro *Rev FCA UNCuyo* 42:135–142.
- Feresin, G.; Tapia, A. y Bustos, D. (2000) Antibacterial activity of some medicinal plants from San Juan, Argentina. *Fitoterapia*.; 71: 429-432.
- Fernández E., A., E. Martínez, M. A. Juárez, M. A. Elechosa, A. M. Molina, C. M. Baren, P. van Di Leo Lira y A. L. Bandoni. (2007). Estudio del aceite esencial de *Hedeoma multiflorum* Benth. (Lamiaceae) "Peperina de las lomas"

obtenido de poblaciones naturales en la provincia de San Luis. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 6 (5): 246-247.

-García, G.; Cavallaro, L.; Broussalis, A.; Ferraro, G.; Martino, V.; Campos, R. (1999). Biological and chemical characterization of the fraction with antiherpetic activity from *Achyrocline flaccida*. *Planta Med.* 65:343-6.

-García, G.; Cavallaro, L.; Broussalis, A.; Ferraro, G.; Martino, V.; De Torres, R.; Cousiio, J.; Campos, R. (1995). Antiviral activity of *Achyrocline flaccida* Wein DC aqueous extract. *Phytother Res.* 9:251-4.

-Garro, H.A; García, C.; Martín, V.C.; Tonna, C.E. and Pungitorea, C.R. (2015). A new iridoid, verbascoside and derivatives with inhibitory activity against Taq DNA polymerase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 25(4): 914-918.

-Garro-Monge, G.; Jiménez-Quesada, K.; Alvarenga-Venutolo, S. (2014). Caracterización genética molecular de materiales procesados de *Stevia rebaudiana* utilizando la técnica de microsatélites. *Tecnolog. en Marcha.* 27(3):33-40.

-Gastaldi, B.; Assef, Y.; van Baren, C.; Di Leo Lira, P.; Retta, D; Bandoni, A.L.; González, S.B. (2016). Actividad antioxidante en infusiones, tinturas y aceites esenciales de especies nativas de la Patagonia Argentina. *Rev Cubana Plant Med.* 21:1.

-Gleiser, R.; Bonino, M.; Zygodlo, J. (2011). Repellence of essential oils of aromatic plants growing in Argentina against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.* 108(1):69-78.

-González, S.B.; Bandoni, A.; van Baren, C.; Di Leo Lira, P.; García, C.; Joseph-Nathan, P. (2004). The essential oil of the aerial parts of *Adesmia boronioides* Hook f. *Journal of Essential Oil Research.* 16:513-6.

-González, S.B.; Molares, S. (2004). Plantas Medicinales utilizadas en comunidades rurales del Chubut, Patagonia Argentina. *BLACPMA.* 3:58 - 62

-Gupta, E.; Purwar, S.; Sundaram, S.; Rai, G.K. (2013). Nutritional and therapeutic values of *Stevia rebaudiana*: A review. *Journal of Medicinal Plants Research.* 7(46):3343-3353.

-Hellióon-Ibarrola, M; Ibarrola, D; Montalbetti, Y. y Kennedy M. (2008). The antidepressant-like effects of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae) in mice. *Phytomedicine*; 15: 478-83.

-Iannicelli, J. (2016) Desarrollo de germoplasma nativo de *Lippia integrifolia* (Gris.) Hier. Una especie de importancia aromática y medicinal. Tesis para optar al Título de Doctor de la UBA. FFYB (UBA).

-Iannicelli, J.; Elechosa, M.A.; Juárez, M.A.; Martínez, A.; Bugallo, V.; Bandoni, A.L.; Escandón; A.S.; C.M. van Baren. (2016b). Effect of polyploidization in the production of essential oils in *Lippia integrifolia*. *Industrial Crops and Products*, 81: 20-29.

-Iannicelli, J.; Pérez de la Torre, Coviella, M. A.; Del Valle Aguirre, E.; Elechosa, M.A.; van Baren, C.M.; Pacheco, M.G. y Escandón, A.S. (2016c). In vitro propagation of *Lippia integrifolia* (Griseb.) Hier. and detection of genetic instability through ISSR markers of in vitro-cultured plants. *Revista de Facultad de Ccas. Agrarias y Forestales (UNLP)* 115 (1): 67-76.

-Iannicelli, J.; González Roca, L.; Elechosa, M. A. y Escandón A. S. (2011). Macro y micropropagación in vitro de *Lippia integrifolia* (incayuyo) y *L. junelliana* (salviaolora): especies aromáticas de importancia industrial, en VIII Simp. Nac. Biotec. REDBIO Argentina, CABA, Argentina.

-Juárez, M.A.; Viturro, C.I.; Elechosa, M.A.; Heit, C.I.; Molina, A.C.; Martínez, A.J. y Molina, A.M. (2012). Quimiotipos en los aceites esenciales de poblaciones naturales de *Aloysia citriodora*, *Aloysia polystachya* y *Clinopodium gilliesii*. III Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales Dominguezia. 28(2):79-80.

-Juliani, H.R.; Biurrun, F.N.; Koroch, A.; De Carli, A.; Zygodlo J.A. (2007). The Production of Native and Exotic Herbs, Medicinal and Aromatic Plants in Argentina. En: *Issues in new crops and new uses*. Janick and A. Whipkey (eds.). ASHS Press, Alexandria, VA, 316-320.

-Karuppusamy, S. (2009). A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. *Journal of Medicinal Plants Research* 3(13):1222-1239.

- Khan, S.A.; Rahman, L.U.; Shanker, K.; Singh, M. (2014). Agrobacterium tumefaciens-mediated transgenic plant and somaclone production through direct and indirect regeneration from leaves in *Stevia rebaudiana* with their glycoside profile. *Protoplasma*. 251(3):661-70.
- Kumar, A.K.; Yadav.; Singh, S.; Dhyani, D.; Ahuja, P.S. (2011). A review on the improvement of stevia *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Can. J. Plant Sci.* 91:1-27.
- Kutschker A.; Menoyo H.; Hechem V. (2002). Plantas medicinales de uso popular en comunidades del oeste de Chubut. Bariloche, Argentina: INTA.
- Lanhers, M.C.; Joyeux, M.; Soulimani, R.; Fleurentin, J.; Sayag, M.; Mortier, F.; Younos, C.; Pelt, J.M. (1991). Hepatoprotective and Anti-Inflammatory Effects of a Traditional Medicinal Plant of Chile, *Peumus boldus*. *Planta Med* 1991. 57(2): 110-115.
- Li, H.; Yang L.; Xiang, Z. (2012). In vitro Induction and Identification of Autotetraploid *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*. <http://en.cnki.com.cn/Article/en/CJFDTOTAL-DNYX201208033.htm>
- Manero de Zumelzú, D. (2000). Mejoramiento genético del té de burro. *Prensa aromática*. 21: 9.
- Manual de cultivo de la *Stevia* para agricultores. [http://www.stevia-asociacion.com/stevia\\_cultivo\\_de\\_agricultores.pdf](http://www.stevia-asociacion.com/stevia_cultivo_de_agricultores.pdf)
- Martínez, G.J. (2005). Recolección y Comercialización de Plantas Medicinales en el Departamento Santa María, Provincia de Córdoba, Argentina. *Acta Farm. Bonaer.* 24(4):575-84.
- Martínez, E.; Fernández E. A. (2000a). Manejo sustentable de *Hedeoma multiflorum* Benth (Lamiaceae) en San Luis (Argentina). Parte I. Germinación de la semilla en condiciones de laboratorio. *Phyton* Vol. 66: 145 -148.
- Martínez, E.; Fernández E. A. (2000b). Manejo sustentable de *Hedeoma multiflorum* Benth (Lamiaceae) en San Luis (Argentina). Parte II. Cultivo experimental en condiciones ambientales serranas. *Phyton* Vol. 66: 175-178.
- Menseguez, P.; Galetto, L.; Anton, A.M. (2007). El uso de plantas medicinales en la población campesina de El Puesto (Córdoba, Argentina). *Kurtziana* 33 (1). Volumen especial de Etnobotánica: 89-102.
- Millet, Y.; Jouglard, J.; Steinmetz, M.; Tognetti, P.; Joanny, P.; Arditti, J. (1981). Toxicity of some essential plant oils. Clinical and experimental study. *Clin. Toxicol.* 18: 1485-1498.
- Missouri Botanical Garden. (2017). <http://www.tropicos.org> (Acceso 30 Oct 2017).
- Mogny, V. Y.; Kahan, M. A.; Paganucci de Queiroz, L.; Vesprini, J.L.; Ortiz, J.P.A.; Prado, D.E. (2016) Optimization of DNA extraction and PCR protocols for phylogenetic analysis in *Schinopsis* spp. and related Anacardiaceae. *SpringerPlus*, DOI: 10.1186/s40064-016-2118-4.
- Mohamed, M.A.H.; Harris, P.J.C.; Henderson, J. (1999). An efficient in vitro regeneration protocol for *Tagetes minuta*. *Plant Cell Tissue Organ Cul.* 55, 211-215.
- Mohamed, M.A.-H.; Harris, P.J.C.; Henderson, J. (2000). In vitro selection and characterization of a drought tolerant clone of *Tagetes minuta*. *Plant Science*.159:213-222.
- Molares, S.; Lario, A. (2008). Plantas medicinales en una comunidad Mapuche del NO de la Patagonia Argentina: clasificación y percepciones organolépticas relacionadas con su valoración. *BLACPMA*. 7(3):149-155.
- Mora S, Díaz-Véliz G, Millán R y Lungenstrass H. (2005) Anxiolytic and antidepressant-like effects of the hydroalcoholic extract from *Aloysia polystachya* in rats. *Pharmacol Biochem Behav.*; 82: 373-8.
- Ortiz, L., Palacio, L.; Brunetti, P.; Lloret, C.; Cantero, J y Goleniowski, M. (2006). Regeneración in vitro de plantas de poleo (*Lippia turbinata* Griseb var. *Turbinata*). *BLACPMA*. 6 (6). Especial IX Simposio Argentino y XII Simposio Latinoamericano de Farmacobotánica.403-404.
- Oviedo-Pereira, D.; Alvarenga Venutolo, S.; Lozano, S.E.; Sepúlveda Jiménez, G.; Rodríguez Monroy, M. (2015). Micropropagación de *Stevia rebaudiana* Bertoni, un Cultivo Promisorio para México. *BioTecnología*, 19(2): 14-27.
- Pathak M. R. y Abido M. S. (2014). The role of Biotechnology in the conservation of biodiversity. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Science*, 2(4):352-363.

- Payne, A.; Mukhopadhyay, A.K.; Deka, S.; Saikia, L. y Nandi, S.P. (2015). Anti-Vibrio and Antioxidant Properties of Two Weeds: *Euphorbia serpens* and *Amaranthus viridis*. *Res. J. Med. Plant*, 9 (4): 170-178.
- Peralta, P.; Guariniello, J.; Aguirre, G.; Iannicelli, J.; Escandón, A. (2017). Propagación in vitro de peperina de las lomas (*Hedeoma multiflorum* Benth). Una nativa en riesgo de extinción. XI Simposio Nacional de Biotecnología REDBIO Argentina: Biotecnología: valor en origen, productividad y sustentabilidad, Bahía Blanca, Buenos Aires.
- Pinilla, S.J.C.; Parra, S.P. (2011). Manejo de formaciones naturales. En: *Boldo (Peumus boldus* Mol.) Rescate de un Patrimonio Forestal Chileno Manejo Sustentable y Valorización de sus Productos. Ed: SusanaBenedetti Ruiz, S. and Barros Asenjo, S. 63-93
- Prada Muñoz, J.K. (2015) Análisis metabólico de la especie *Baccharis latifolia* (Asteraceae) en la sabana de Bogotá. Trabajo de Grado de la Universidad Militar Nueva Granada.
- Prada, J.; Orduz-Díaz, L.; Coy-Barrera, E. (2016). *Baccharis latifolia*: una Asteraceae poco valorada con potencialidad química y medicinal en el neotrópico. *Rev. Fac. de Ciencias Básicas. Universidad Militar Nueva Granada*. 12(1):92-105  
<http://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/10654/6623/1/ANALISIS%20METABOLOMICO%20DE%20Baccharis%20latifolia%20.pdf>
- Quezada, N.; Ascencio, M.; Del Valle, J. M.; Aguilera, J. M.; Gómez B. (2004). Antioxidant activity of crude extract, alkaloid fraction, and flavonoid fraction from *Boldo (Peumus boldus* Molina) leaves. *Journal of Food science*, 69 (5): 371-376.
- Retta, D.; Fernandez Penuto, R.; Correa, M.; Gatusso, M.; Gatusso, S. y Bandoni, A. (2010). Diferenciación de las especies *Achyrocline satureioides*, *A. flaccida* y *Gnaphalium gaudichaudianum* por sus perfiles cromatográficos. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 9(2):93-99.
- Retta, D.; Gattuso, M.; Gattuso, S.; Di Leo Lira, P.; van Baren, C.; Ferraro, G.; Bandoni, A. (2008). Essential oil composition of *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. (Asteraceae) from different locations of Argentina. *Bioch. System. and Ecol*. 36:877-881.
- Ríos, D.; Sandoval, D. y Gómez, C. (2010). In vitro culture of *Peumus boldus* Molina via direct organogenesis. *IDECEFYN*, 21: 70-72.
- Rodrigues de Almeida, E.; Melo, A.M.; Xavier H. (2000). Toxicological evaluation of the hydro-alcoholic extract of the dry leaves of *Peumus boldus* and boldine in rats. *Phytother. Res*. 14:99-102.
- Rondina, R.V.D.; Bandoni, A.L. and Coussio, J.D. (2008). Especies medicinales argentinas con potencial actividad analgésica. *Dominguezia*. 24(1):47-69.
- Ross, S.; Castillo, A. (2010). Micropropagación de *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. en medios de cultivo líquidos. *Agrociencia* 14(1):1-7.
- Ruffinengo S.; Eguaras M.; Floris, I.; Faverin C.; Bailac, P. y Ponzi M. (2005).- LD50 and repellent effect to *Varroa destructor* mite of different essential oil from Argentina wild plants species.- *Journal of Economic Entomology*, 98: 651-655.
- Ruffinengo S.; Maggi, M.; Fuselli, S.; De Piano, F.G.; Negri, P.; Brascesco, C.; Satta, A.; Floris, I. y Eguaras M. (2014). Bioactivity of microencapsulated essentials oils and perspectives of their use in the control of *Varroa destructor*. *Bulletin of Insectology*: 67 (1): 81-86.
- Salcedo Ortiz, L.; Almanza Vega, G.R. (2011). Uso de *Baccharis latifolia* (Chilca) en La Paz, Bolivia. *BIOFARBO [online]* .19 (1): 59-63.
- Schmeda-Hirschmann, G.; Rodríguez, J.A.; Theoduloz, C.; Astudillo, S.L.; Feresin, G.E.; Tapia, A. (2003). Free-radical Scavengers and Antioxidants from *Peumus boldus* Mol. ("Boldo"). *Free Radical Research*. 37(4).  
<http://dx.doi.org/10.1080/1071576031000090000>

- Shahzadi, I.; Ahmed, R.; Hassan, A.; Shah, M. M. (2010). Optimization of DNA extraction from seeds and fresh leaf tissues of wild marigold (*Tagetes minuta*) for polymerase chain reaction analysis. *Genetics and Molecular Research*. 9(1), 386-393.
- Tereschuk, M.L.; Riera, M.V.Q.; Castro, G.R.; Abdala, L.R. (1997). Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of *Tagetes minuta*. *Journal of Ethnopharmacology*. 56:227–232.
- Toloza, A.; Mougabure Cueto, G.; Zygadlo, J.; Zerba, E. y Picollo M. (2005) Fumigant bioactivity of essential oils from native Argentinean plants against head lice *Pediculus humanus capitis*. 1° Congreso de Fitoterápicos de Mercosur. Montevideo, Uruguay, 28 nov-2 dic. Abstract P-53.
- Toloza-Zambrano, P.; Avello, M. y Fernández, P. (2015). Determinación de rutina y trigonelina en extractos de hojas de *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* y evaluación del efecto hipoglicemiante en humanos. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 14 (1): 21–32.
- Vademécum colombiano de plantas medicinales. (2008). Arte y Sistemas Integrados Ltda. 1st ed. Bogotá, D.C: Ministerio de Protección Social. (<http://www.oras-conhu.org/Data/2015911122143.PDF>) (Acceso 30 Oct 2017).
- Valarezo, E.; Rosillo, M.; Cartuche, L.; Malagón, O.; Meneses, M.; Morocho, V. (2013). Chemical composition, antifungal and antibacterial activity of the essential oil from *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. (Asteraceae) from Loja, Ecuador. *The Journal of Essential Oil Research*. 25(3):233-238.
- van Baren, C., Anao, I., Leo Di Lira, P., Debenedetti, S., Houghton, P., Croft, S. y Martino, V. (2006). Triterpenic acids and flavonoids from *Satureja parvifolia*. Evaluation of their antiprotozoal activity. *Z Naturforsch C.*, 61: 189-192.
- Vischi, N.; Natale, E. and Villamil, C. (2004). Six endemic plant species from central Argentina: an evaluation of their conservation status. *Biodiversity and Conservation*. 13:997–1008.
- Vogel, H.; San Martín, J.; Doll, U. (2007). Cosecha sustentable y comercialización. En: INIA, Tierra Adentro, Nro. especial Recursos: 12-14.
- Vogel, H.; Razmilic, I.; Doll, U. (1997). Contenido de aceite esencial y alcaloides en diferentes poblacionales de boldo (*Peumus boldus* Mol.). 24:1.
- Yadav, A.K.; Singh, S.; Yadav, S.; Dhyani, D.; Bhardwaj, G.; Sharma, A.; Singh, B. (2013). Induction and morphochemical characterization of *Stevia rebaudiana* colchipooids. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 83(2): 159–65.
- Zampini, S.; Viturro, C.; Molina, A. (2003). Estudio preliminar del manejo agrícola de *Aloysia polystachya* (Gris.) Mold. *Jornadas de Investigación Científico-Tecnológica*. Posadas, Misiones, 29-31 Oct 2003. p. 95.
- Zuñiga, G. (2013). Use of *Peumus boldus* extract obtained by means of in vivo culture and having anti-botrytis, allelopathic and antioxidant activity. WO 2013056386 A1 <https://www.google.com/patents/WO2013056386A1?cl=en>
- Zygadlo, J.A.; Guzman, C.A.; Rosso, N.R. (1994). Antifungal Properties of the Leaf Oils of *Tagetes minuta* L. and *T. filifolia* Lag. *J. Essent. Oil Res.* 6,617-621.