



Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Escuela para Graduados



**CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE GENOTIPOS DE ORÉGANO
CULTIVADOS EN LAS PRINCIPALES ZONAS DE PRODUCCIÓN DE
ARGENTINA**

Lorena Elizabeth Torres

Tesis

**Para optar al Grado Académico de
Doctora en Ciencias Agropecuarias**

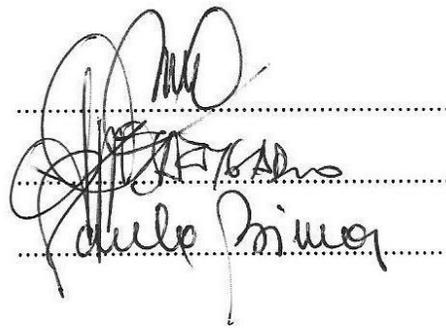
Córdoba, 2011

**CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE GENOTIPOS DE ORÉGANO
CULTIVADOS EN LAS PRINCIPALES ZONAS DE PRODUCCIÓN DE
ARGENTINA**

Lorena Elizabeth Torres

Comisión Asesora de Tesis

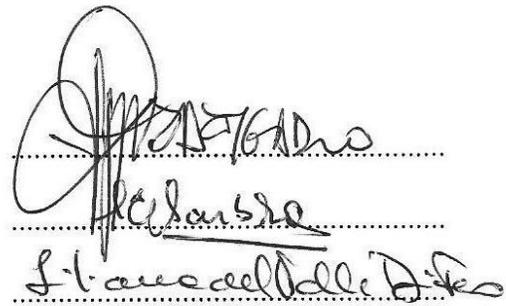
Director: Dra. Marta S. Ojeda
Asesores: Dr. Julio A. Zygodlo
Dra. Paula J. Bima



.....
.....
.....

Tribunal Examinador de Tesis

Dr. Julio A. Zygodlo
Dra. Gloria E. Barboza
Dra. Liliana del V. Di Feo



.....
.....
.....

Presentación formal académica

17 de Marzo de 2011

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba

*“I thank whatever gods may be for my unconquerable soul.
I am the master of my fate, I am the captain of my soul.”*

*(Agradezco a los dioses, si existen, por mi alma invencible.
Yo soy el amo de mi destino. Yo soy el capitán de mi alma)*

(William E. Henley, Invictus)

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba (SECyT - UNC), organismo que financió la realización de este trabajo.

A la Dra. Marta Ojeda, mi directora, por confiar en mí para llevar adelante este trabajo...con quién compartimos penas y alegrías, momentos de crisis existenciales y charlas de chicas...quién siempre tiene una palabra para hacernos ver las cosas desde otra perspectiva.

A la Dra. Paula, de quién aprendí las artes del cultivo *in vitro*, por acompañarme a lo largo de todas mis tesis, por su enorme paciencia y su continua colaboración.

Al Dr. Julio Zygadlo, por su disposición a recibirme cada vez que necesité su colaboración, siempre aportando ideas y alentándome a hacer “algo” más.

A mis compañeras, Guada, Pauli, Sonia y Yami, cuatro mujeres increíbles con quienes comparto gran parte de mis días, con quienes puedo contar siempre que necesite una mano o las dos.

A los Sres. Amador Monjes, Luciano López, Franco Villalba y a la Srta. Carolina Chiappero por su permanente colaboración, sin ellos nuestra taréa sería aún más complicada.

A mis compañeras del Laboratorio de Biotecnología (FCA-UNC), quienes se tomaron el trabajo de mantener el orégano *in vitro* durante mis ausencias.

Al Ing. Ricardo Maich, siempre dispuesto a colaborar conmigo en todo desde el primer momento en que llegué a Genética.

Al Sr. Eduardo García, por permitirnos llevar adelante en su campo el ensayo de Potrero de Garay, colaborando además con las taréas de mantenimiento del mismo. Le agradezco también las tardes de mates y de charlas en ese hermoso lugar del mundo.

Al Ing. Agr. Hernán Bagatello, por su colaboración en el seguimiento y mantenimiento del ensayo de Potrero de Garay.

A mis colegas mendocinos, el Ing. Agr. Pablo Bauzá, la Ing. Agr. Carla Baglio, el Ing. Agr. Juan Bastias (el Negro) y la Srta. Silvina Panonto, quienes fueron mis manos y mis ojos en el ensayo implantado en La Consulta, sin su colaboración hubiera sido casi imposible llevar adelante el ensayo en Mendoza.

A la Ing. Agr. Adriana Ordóñez, la Biól. Laura Torres y a la Ing. Diana Manero, con quienes comencé mi camino en esta casa, siendo aún estudiante de grado, por todas las experiencias compartidas.

A todas las personas e instituciones que aportaron los materiales con los que se llevó a cabo este trabajo, entre ellos a FECOAGRO (San Juan), a la Sra. Cecilia Maldonado (Río Negro), a la Ing. Agr. María Laura Berzins (Río Negro), al Lic. Diego Uñates (Córdoba) y al Ing. Agr. Daniel Suarez (Córdoba).

A mis amigos del alma: Alicia, Nego, Betty, Fernando, Desiré y Alejandro, siempre tan cerca y pendientes de nosotros.

A mis tíos Jesús y Marilú, por permitirme disponer de varios de sus fines de semana para llevarme a medir ensayos.

A mi hermana y a mi mamá, las mujeres de mi vida, con quienes puedo contar incondicionalmente. Sin ellas, mi trabajo sería infinitamente más complicado.

A Martina...mi pequeña gran compañera...quien disfruta enormemente de acompañarme al campo o al invernadero (equipada con todos sus elementos de jardinería)...quién con solo preguntar “¿cómo están tus oréganos mamá?” o comentar “están hermosas tus plantas mamá” hace que los largos días de campo hayan valido el esfuerzo...a ella, el mejor y más grande ensayo de mi vida, muchas gracias!!!

A Alejandro, mi colega, mi mejor amigo, mi compañero de aventuras, el gran amor de mi vida...Gracias por elegirme, por entender cuanto disfruto de mi trabajo y apoyarme a cada paso del camino, por alentarme a seguir cuando ya no creo poder, por su infinita paciencia (que reconozco llevar al límite a veces)...Gracias por estar a mi lado siempre...

A la memoria de una gran señora...Doña María, mi abuela

RESUMEN

En Argentina, el orégano es una de las especies aromáticas más cultivadas, de las que se usan las hojas y sumidades floríferas (destinadas al consumo minorista, industrial y a la exportación). La producción local presenta escasos rendimientos medios debido a la variabilidad del material cultivado, a la modalidad de propagación utilizada (agámica) y a la falta de conocimientos y experimentación adaptativa sobre prácticas de cultivo avanzadas. Con el fin de caracterizar el germoplasma de orégano utilizados en Argentina y determinar la variabilidad inter e intrapoblacional existente para caracteres de importancia agronómica, se llevó a cabo la recolección de clones de orégano cultivados en el país. Se ajustaron las condiciones de establecimiento del cultivo *in vitro*, saneamiento mediante cultivo de meristemas y micropropagación para 19 clones de orégano de distinta procedencia. Se logró la recuperación de clones de orégano que, debido al deterioro causado por la acumulación de enfermedades, estaban desapareciendo de los campos de producción. Se logró establecer una colección de germoplasma *in vitro* constituida por 12 clones de orégano de distinto origen. Estos clones fueron evaluados a campo en tres localidades diferentes, poniendo de manifiesto la interacción genotipo x ambiente para la mayoría de las variables evaluadas. Independientemente de la localidad de cultivo, las variables cuantitativas con mayor valor discriminante entre genotipos fueron el rendimiento de aceites esenciales, la longitud de entrenudos, la longitud de la rama más larga, peso fresco, peso seco de hoja y de tallos, la relación hoja/tallo y el área foliar. Las variables cualitativas de mayor valor discriminante fueron el color de hojas, color de tallos, color de brácteas, color de flor, porte de las plantas, momento de floración y longitud de la espiga. En función de las variables analizadas, se diferenciaron en cuatro grupos de orégano. En cuanto a la identificación taxonómica, se determinó que los clones evaluados pertenecen a tres taxones diferentes: *Origanum vulgare* ssp *vulgare*, *Origanum vulgare* ssp *hirtum* y *Origanum x majoricum*. Dentro de cada uno de los cuatro grupos, discriminados en función de caracteres cuantitativos y cualitativos, los clones pertenecen al mismo taxón.

Palabras clave: *Origanum* sp.; saneamiento y micropropagación *in vitro*; evaluación a campo; rendimiento en biomasa fresca y seca; rendimiento de aceites esenciales, caracterización taxonómica.

ABSTRACT

In Argentina, oregano (*Origanum* spp.) is one of the most important aromatic species, which leaves and flowering tops are used as seasoning, targeting the retail consumer, industrial and less to export. Local production has low average yields due to the variability of cultivated material, the vegetative propagation methods used and the lack of knowledge and adaptive experimentation on advanced cultivation practices. In order to characterize the germplasm of oregano used in Argentina and to determine the inter and intra-population variation existing for traits of agronomic importance, the collection of clones of oregano grown in the country was carried out. Conditions for the establishment of *in vitro* culture, sanitation by meristems culture and micropropagation for 19 clones of oregano were adjusted. It was possible to recover clones of oregano, which due to the successive cycles of vegetative propagation, were disappearing from the fields of production. It was also possible to generate a collection of germplasms *in vitro* consisting of 12 clones of oregano of different origins. These clones were field evaluated at three different locations, showing genotype x environment interaction for the most of the variables. Regardless of growing location, the quantitative variables with more discriminating value were essential oils yield, internode length, length of the longest branch, fresh weight, dry weight of leaf and stem, leaf/stem ratio and leaf area. With regard to qualitative variables, those with the largest discriminant value were leaves color, stem color, color of bracts, flower color, growth habits, flowering time and spike length. Depending on the variables analyzed oregano clones could be classified into four groups. Finally, it was determined that the evaluated clones belong to three different taxa: *Origanum vulgare* ssp *vulgare*, *Origanum vulgare* ssp *hirtum* and *Origanum x majoricum* (hybrid). Within each group, the clones belong to the same taxon.

Key words: *Origanum* sp.; micropropagation; field evaluation; fresh and dry biomass yield; essential oil yield; taxonomic characterization.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN	19
ORIGEN Y TAXONOMÍA DEL GÉNERO <i>ORIGANUM</i>	19
USOS Y PROPIEDADES DEL ORÉGANO	26
PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE ORÉGANO	27
Origen de las importaciones.....	29
Destino de las exportaciones.....	29
SITUACIÓN DEL CULTIVO DE ORÉGANO EN ARGENTINA	30
HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	32
OBJETIVO GENERAL.....	32
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
BIBLIOGRAFÍA	34
CAPÍTULO 2 – SANEAMIENTO Y MICROPROPAGACIÓN <i>IN VITRO</i>	39
INTRODUCCIÓN.....	39
MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
MATERIAL VEGETAL.....	42
ESTABLECIMIENTO Y CULTIVO DE MERISTEMAS <i>IN VITRO</i>	43
MICROPROPAGACIÓN Y CRECIMIENTO <i>IN VITRO</i>	45
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
ESTABLECIMIENTO Y CULTIVO DE MERISTEMAS <i>IN VITRO</i>	47
MICROPROPAGACIÓN Y CRECIMIENTO <i>IN VITRO</i>	49
COLECCIÓN DE GERMOPLASMA <i>IN VITRO</i>	56
CONCLUSIONES.....	57
BIBLIOGRAFÍA	58
CAPÍTULO 3 – EVALUACIÓN A CAMPO.....	63
INTRODUCCIÓN.....	63
MATERIALES Y MÉTODOS.....	66
OBTENCIÓN DE PLANTAS	66
ENSAYOS A CAMPO	69
IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LOS CLONES DE ORÉGANO	73
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	73

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	74
ENSAYO 1 - EEA – LA CONSULTA INTA (MENDOZA) (EO ₁)	74
Caracteres Cuantitativos	74
Caracteres Cualitativos	79
ENSAYO 2 – POTRERO DE GARAY (CÓRDOBA) (EO ₂)	84
Caracteres Cuantitativos	84
Caracteres Cualitativos	90
ENSAYO 3 – CAMPO ESCUELA FCA – UNC (CÓRDOBA) (EO ₃)	95
Caracteres Cuantitativos	95
Caracteres Cualitativos.	102
INTERACCIÓN CLON X LOCALIDAD	107
IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LOS CLONES DE ORÉGANO	111
CONCLUSIONES	113
BIBLIOGRAFÍA	115
CAPÍTULO 4 – CONCLUSIONES GENERALES	120
OBJETIVOS PARA FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	122

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 - Clasificación taxonómica del género <i>Origanum</i> y su distribución geográfica: Grupo A	22
Tabla 1.2 - Clasificación taxonómica del género <i>Origanum</i> y su distribución geográfica: Grupo B.....	23
Tabla 1.3 - Clasificación taxonómica del género <i>Origanum</i> y su distribución geográfica: Grupo C.....	24
Tabla 1.4 - Híbridos de orégano: su origen y localización	25
Tabla 2.1 - Origen de los 19 clones de orégano, recolectados para su saneamiento, caracterización y evaluación	43
Tabla 2.2 - Porcentaje de supervivencia de explantos y meristemas obtenidos a partir de 15 clones de orégano.....	48
Tabla 3.1 - Ubicación geográfica y altitud de las tres localidades en las cuales se implantaron los ensayos comparativos de orégano	69
Tabla 3.2 - Análisis químico de suelo de cada una de las tres localidades donde se implantaron los ensayos de orégano	70
Tabla 3.3 - Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en La Consulta (San Carlos, Mendoza), en la primera cosecha	76
Tabla 3.4 - Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en La Consulta (San Carlos, Mendoza), segunda cosecha.....	76
Tabla 3.5 - Parámetros foliares medidos en los 12 clones de orégano evaluados.....	77
Tabla 3.6 - Porcentaje de presencia de caracteres cuantitativos evaluados en 12 clones de orégano, cultivados en La Consulta (San Carlos, Mendoza).....	80
Tabla 3.7 - Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en la localidad de Potrero de Garay (Santa María, Córdoba), en la primera cosecha	87
Tabla 3.8 - Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en Potrero de Garay (Santa María, Córdoba), segunda cosecha.....	88
Tabla 3.9 - Parámetros foliares medidos en los 12 clones de orégano evaluados en la localidad de Potrero de Garay (Córdoba)	88
Tabla 3.10 - Porcentaje de presencia de caracteres cuantitativos evaluados en 12 clones de orégano, cultivados en Potrero de Garay (Santa María, Córdoba)	91

Tabla 3.11 - Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en Campo Escuela de la FCA - UNC (Camino a Capilla de los Remedios Km 15 y 1/2, Córdoba), en la primera cosecha.....	99
Tabla 3.12 - Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en el Campo Escuela de la FCA - UNC (Camino a Capilla de los Remedios Km 15 y 1/2, Córdoba), segunda cosecha	99
Tabla 3.13 - Parmetros foliares medidos en los 12 clones de oregano evaluados en el Campo Escuela de la FCA - UNC (Camino a Capilla de los Remedios, Córdoba).....	100
Tabla 3.14 - Porcentaje de presencia de caracteres cuantitativos evaluados en 12 clones de orégano, cultivados en el Campo Escuela de la FCA (Camino a Capilla de los Remedios Km 15 y 1/2, Córdoba).....	103
Tabla 3.15 - Valores medios para las variables cuantitativas evaluadas en las tres localidades de cultivo.....	109
Tabla 3.16 - Valores medios para las variables cuantitativas evaluadas en las tres localidades de cultivo, medidas en la segunda cosecha.....	109
Tabla 3.17 - Valores promedio para los parámetros foliares evaluados en las tres localidades de cultivo.....	110
Tabla 3.18 - Identificación taxonómica de los 12 clones de orégano evaluados	112

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Zonas de distribución del género <i>Origanum</i> en los distintos países de la Región Mediterránea (Adaptado de Kokkini, 1996)	20
Figura 2.1 - Semillas de orégano (a) y plántulas (b) obtenidas a partir de la germinación de dichas semillas	39
Figura 2.2 - Plantas madres de orégano, a partir de las cuales de obtuvieron las estacas para llevar a cabo el saneamiento y la micropropagación de los clones.....	44
Figura 2.3 - Brotes de orégano desinfectados e introducidos <i>in vitro</i> : a los 0 (a), 7 (b) y 15 (c) y 30 (d) días de cultivo.....	45
Figura 2.4 - Plántulas de orégano originadas a partir del cultivo de meristemas: a los 2 (a), 10 (b) y 20 (c) días de cultivo	45
Figura 2.5 - Multiplicación de plántulas de orégano saneadas: (1) un día, (2) 7 días y (3) 30 días después de la multiplicación	46
Figura 2.6 - Longitud de plántulas promedio de 12 clones de orégano provenientes de las principales zonas de producción del país, mantenidos en condiciones de cultivo <i>in vitro</i>	50
Figura 2.7 - Longitud de entrenudos promedio de 12 clones de orégano provenientes de las principales zonas de producción del país, mantenidos en condiciones de cultivo <i>in vitro</i>	51
Figura 2.8 - Número de microestacas promedio obtenidas a partir de plántulas de orégano pertenecientes a 12 clones de distinta procedencia	52
Figura 2.9 - Valores medios para las variables peso fresco y peso seco medidos en plántulas de orégano pertenecientes a 12 clones procedentes de distintas regiones del país	54
Figura 2.10 - Contenido promedio de fibra (%) estimado en plántulas de orégano pertenecientes a 12 clones de distinta procedencia	55
Figura 3.1 - Principales zonas de producción de orégano del país. Adaptado de Potaschner y Bauzá (2009).....	64
Figura 3.2 - Pasaje de las plántulas del cultivo <i>in vitro</i> a maceta, mantenidas en cámara de cría: inmediatamente después del transplante (a), a los dos (b) y a los nueve días posteriores al transplante (c)	67

Figura 3.3 – Plántulas de orégano trasladadas a invernadero luego de cuatro semanas permanencia en cámara de cría (a). Mantención bajo condiciones ambientales controladas (b, c, d y e).....	68
Figura 3.4 - Multiplicación: plantas madre saneadas (a), esquejes binodales (b y c), plantas aptas para su trasplante a campo (d)	68
Figura 3.5 - Siembra de los ensayos en la EEA-La Consulta INTA (a), Potrero de Garay (predio privado) (b) y en el Campo Escuela FCA-UNC (c).....	70
Figura 3.6 - Despalillado manual de los materiales, para posterior estimación de peso seco de hojas y tallos	72
Figura 3.7 - Equipo de destilación Clevenger modificado, con cámara de extracción separada (capacidad de la cámara: 5g).....	72
Figura 3.8 - Imagen de las hojas escaneadas para la determinación de los parámetros foliares. La barra representa 1 cm.....	73
Figura 3.9 - Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2), donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cuantitativas medidas en La Consulta (Mza)....	78
Figura 3.10 - Gráficos biplot de los planos conformados por las componentes principales CP1 y CP2, donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cualitativas registradas en La Consulta (Mza) ..	82
Figura 3.11 - Inflorescencias de orégano: a) espigas largas; b) espigas medianas y cortas	82
Figura 3.12 - Inflorescencias de orégano: a) laxa; b) densa.....	83
Figura 3.13 - Ordenamiento de los 12 clones de orégano (EO ₁) en el plano conformado por los dos primeros ejes de un APG con ARM	84
Figura 3.14 - Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2), donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cuantitativas medidas en Potrero de Garay (Cordoba)	89
Figura 3.15 - Gráficos biplot de los planos conformados por las componentes principales CP1 y CP2, donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cualitativas registradas en Potrero de Garay (Córdoba)	92

Figura 3.16 - Color de tallo: a) verde; b) morado.....	93
Figura 3.17 - Color de flor: a) blanco; b) rosado; c) rosado intenso/violeta.....	93
Figura 3.18 - Ordenamiento de los 12 clones de orégano (EO ₂) en el plano conformado por los dos primeros ejes de un APG con ARM	95
Figura 3.19 - Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2), donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cuantitativas medidas en el Campo Escuela, FCA – UNC (Córdoba)	101
Figura 3.20 - Gráficos biplot de los planos conformados por las componentes principales CP1 y CP2, donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cualitativas medidas en el Campo Escuela de la FCA-UNC (Córdoba).....	104
Figura 3.21 - Ordenamiento de los 12 clones de orégano (EO ₃) en el plano conformado por los dos primeros ejes de un APG con ARM	106
Figura 3.22 - Ordenamiento de los 12 clones de orégano en el plano conformado por los dos primeros ejes de un APG con ARM, considerando caracteres cuantitativos evaluados en las tres localidades de cultivo	111

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP	análisis de componentes principales
AF	área foliar
Agua 1	contenido de agua (primera cosecha).
Agua 2	porcentaje de agua (segunda cosecha)
AH	ancho de hojas
AH/LH	relación ancho de hojas/largo de hojas
ANA	ácido naftalenacético
ANAVA	análisis de la varianza
APG	análisis de procrustes generalizados
Ap-VC	ápices verde claro
ARM	árbol de recorrido mínimo
BA	benciladenina
BV	brácteas verdes
C	carbono
C/N	relación carbono-nitrógeno
C₁-FCA	clon 1 procedente de la FCA – UNC, Córdoba
C₂-FCA	clon 2 procedente de la FCA – UNC, Córdoba
C₃-FCA	clon 3 procedente de la FCA – UNC, Córdoba
C₅-FCA	clon 5 procedente de la FCA – UNC, Córdoba
C₈-FCA	clon 8 procedente de la FCA – UNC, Córdoba
C₉-FCA	clon 9 procedente de la FCA – UNC, Córdoba
CAEMPA	Cámara Argentina de Especies, Molineros de Pimentón y Afines
Cba	Córdoba
Cd-Mza	clon “Cordobés” procedente de Mendoza
CE	Conductividad eléctrica
CE-Cba	Campo Escuela FCA-UNC (Córdoba)
Cm-Mza	clon “Compacto” procedente de Mendoza
Cm-SJ	clon “Compacto” procedente de San Juan
CP1	componente principal 1

CP2	componente principal 2
Cr-BA	clon “Criollo” procedente de San Juan
Cr-Mza	clon “Criollo” procedente de Mendoza
Cr-SJ	clon “Criollo” procedente de San Juan
EO₁	ensayo de orégano EEA-La Consulta INTA, San Carlos (Mendoza)
EO₂	ensayo de orégano Potrero de Garay, Santa María (Córdoba)
EO₃	ensayo de orégano Campo Escuela FCA-UNC, Camino a Capilla de los Remedios (Córdoba)
Esp-L	espiga larga
F₁₄₀	en flor a los 140 días
F₈₅	en flor a los 85 días
FB	flores blancas
FCA	Facultad de Ciencias Agropecuarias
Fibra 1	contenido de fibra (primera cosecha).
Fibra 2	porcentaje de fibra (segunda cosecha)
H/T 1	relación peso seco de hoja/peso seco de tallos (primera cosecha)
HVO	hojas verde oscuro
IDR	Instituto de Desarrollo Rural
IL	inflorescencia laxa
INASE	Instituto Nacional de Semillas
LBV	Laboratorio de Biotecnología Vegetal
LC-Mza	La Consulta (Mendoza)
LE	longitud de entrenudos
LH	largo de hojas
LRL 1	longitud de la rama más larga a los 85 días de la siembra
LRL 2	longitud de la rama más larga a los 400 días de la siembra
Me-Mza	clon “Mendocino” procedente de Mendoza
Me-SJ	clon “Mendocino” procedente de San Juan
Me-TS	clon “Mendocino” procedente de Traslasierras (Córdoba)
MO	materia orgánica
MS	medio de cultivo Murashige & Skoog
msnm	metros sobre el nivel del mar

Mza	Mendoza
N	nitrógeno
NB-TS	clon “Negrito B” procedente de Traslasierras (Córdoba)
Ne-SJ	clon “Negrito” procedente de San Juan
Ne-TS	clon “Negrito” procedente de Traslasierras (Córdoba)
O.	<i>Origanum</i>
PE₁	porte erecto a los 85 días
PE₂	porte erecto a los 400 días
PF 1	peso fresco (primera cosecha).
PF 2	peso fresco (segunda cosecha)
PG-Cba	Potrero de Garay (Córdoba)
PMA	precipitación media anual
PS 1	peso seco (primera cosecha).
PS 2	peso seco (segunda cosecha)
PSH 1	peso seco de las hojas (primera cosecha).
PST 1	peso seco de los tallos (primera cosecha).
Ramas	número de ramas por planta
SJ	San Juan
sp	especie
ssp	subespecie
TmE	temperatura media del mes enero
TmJ	temperatura media del mes de julio
TV	tallos verdes
UNC	Universidad Nacional de Córdoba
VL-TS	clon “Verde Limón” procedente de Traslasierras (Córdoba)

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

Existen plantas, denominadas *aromáticas*, que producen principios activos, constituidos total o parcialmente por esencias. Entre ellas encontramos especies que el hombre utiliza como condimentos o especias para la preparación de guisos, adobos y licores, ya que por sus características organolépticas confieren a los alimentos y bebidas aromas, colores y sabores que los hacen más atractivos al olfato y al paladar (Muñoz, 2000).

El aprovechamiento de las plantas aromáticas, así como la extracción y utilización de sus esencias, se remonta a la antigüedad (Palacio Garcia-Nieto, 2000; Guerra Ordóñez *et al.*, 2001). Ya en la Biblia (Guerra Ordóñez *et al.*, 2001) y en el papiro de Ebers, escrito 2.400 años antes de Cristo, se hacen referencias al uso de estas plantas, entre las que se mencionan al tomillo (*Thymus vulgaris* L.), enebro (*Juniperus communis* L.), comino (*Cuminum cyminum* L.) y ajeno (*Artemisia absinthium* L.) (Vallejo Villalobos *et al.*, 2009). Entre las especies condimenticias más utilizadas podemos mencionar: comino, ajo, cilantro, menta, tomillo, romero, salvia, mejorana y orégano.

Particularmente el orégano ha sido conocido y utilizado durante siglos, siendo a menudo confundido con la mejorana. En los países mediterráneos, esta última fue una de las hierbas más populares durante la Edad Media, mientras que el orégano se cultivaba muy poco, probablemente debido a que tradicionalmente se cosechaban plantas silvestres. El resto del mundo descubrió esta aromática después de la Segunda Guerra Mundial, con la expansión del consumo de pizza (Kintzios, 2002).

ORIGEN Y TAXONOMÍA

“Orégano” es el nombre común con que se denomina a más de 60 especies vegetales utilizadas en todo el mundo principalmente como condimento, la mayoría de ellas pertenecientes a las familias *Lamiaceae* (oréganos europeos, *Origanum* sp) y *Verbenaceae* (oréganos Mexicanos, *Lippia* sp) (Kintzios, 2002). Las especies de

orégano más utilizadas pertenecen al género *Origanum*, nombre derivado de los vocablos griegos *oros* (montaña) y *ganos* (adorno u ornamento) (Kintzios, 2002).

El género *Origanum* (*Lamiaceae*) cuenta a nivel mundial con más de 50 taxones entre especies, subespecies e híbridos (Iestwaart, 1980) y es originario de la Región Mediterránea (Figura 1.1). De hecho, la mayoría de sus taxones tienen una distribución muy local en todo el Mediterráneo siendo muchos de ellos endémicos. Tres taxones están restringidos a Marruecos y al sur de España, dos se encuentran en Argelia y Túnez, tres son endémicas de la Cirenaica, nueve se encuentran en Grecia, los Balcanes del Sur y Asia Menor (siendo seis de ellos endémicos), 32 se encuentran en Turquía, Chipre, Siria y el Líbano (21 especies endémicas de Turquía) y ocho son de distribución local en Israel, Jordania y la Península del Sinaí (Kokkini, 1997). Dado que la mayoría de los taxones de orégano crecen naturalmente en Turquía, se sugiere a este país como el centro de distribución del género (Baser, 2002).



Figura 1.1 – Zonas de distribución del género *Origanum* en los distintos países de la Región Mediterránea (Adaptado de Kokkini, 1996).

Debido a la existencia de numerosas especies e híbridos, la taxonomía del género resulta bastante compleja. Durante los últimos 150 años no menos de 70

especies, subespecies, variedades e híbridos reconocidos como orégano han recibido más de 300 nombres científicos (Kintzios, 2002). En 1980, Ietswaart llevó a cabo la revisión completa del género *Origanum* basándose principalmente en caracteres florales. Como resultado de sus observaciones Ietswaart diferenció tres grupos, 10 secciones, 38 especies, seis subespecies (Tabla 1.1) y 17 híbridos (Tabla 1.2), a las que entre 1984 y 1998 se sumaron cinco nuevas especies y un híbrido (Skoula y Harborne, 2002). Resulta interesante destacar que la mayoría de los híbridos de orégano identificados cuentan con escasos ejemplares en la naturaleza. De hecho algunos de ellos sólo se encontraron cultivados en jardines como es el caso de *Origanum x applii*, *Origanum x hybridinum* y *Origanum amanum x dictamnus* (que es además un híbrido artificial) o se conocen sólo ejemplares de herbario, como *Origanum sipyleum x Origanum vulgare* ssp. *hirtum* y *Origanum vulgare* ssp. *vulgare x Thymus* sp. (Ietswaart, 1980).

En nuestro país se encuentra documentada la existencia de siete taxones pertenecientes al género *Origanum*: *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* L., *Origanum majorana* L., *Origanum vulgare* ssp. *virens* (Hoffmanns et Link) Ietsw., *Origanum vulgare* ssp. *viride* (Boissier) Hayek, *Origanum x applii* (Domin.) Boros, *Origanum x majoricum* Cambes. y *Origanum dictamnus* L. (Xifreda, 1983; Rouquaud y Videla, 2000, Arizio *et al.*, 2006).

Tabla 1.1 – Clasificación taxonómica del género *Origanum* y su distribución geográfica: Grupo A

Sección	Especie*	Distribución
<i>Amaracus</i> (Gleditsch) Bentham	<i>O. boissieri</i> Iestwaart	Turquía
	<i>O. calcaratum</i> Jussieu	Grecia, Islas del Mar Egeo, Creta
	<i>O. cordifolium</i> (Montbret et Aucher ex Bentham) Vogel	Cyprus, Siria
	<i>O. dictamnus</i> Linnaeus	Creta
	<i>O. saccatum</i> Davis	Turquía
	<i>O. solymicum</i> Davis	Turquía
<i>Anatolicon</i> Bentham	<i>O. symes</i> Carlstrom	Grecia, Islas del Mar Egeo
	<i>O. akhdarensis</i> Iestwaart et Boulos	Libia
	<i>O. cyrenaicum</i> Béguinot et Vaccari	Libia
	<i>O. hypericifolium</i> Schwarz et Davis	Turquía
	<i>O. libanoticum</i> Boissier	Libano
	<i>O. scabrum</i> Boissier et Heldreich	Grecia, Creta
	<i>O. sipyleum</i> Linnaeus	Grecia, Islas del Mar Egeo, Turquía
	<i>O. vetteri</i> Briquet et Barbey	Grecia, Islas del Mar Egeo
	<i>O. pampaninii</i> (Brullo et Fumari) Iestwaart	Libia
	<i>O. acutidens</i> (Handel-Mazzetti) Iestwaart	Turquía
<i>Breviflamentum</i> Iestwaart	<i>O. bargyli</i> Mouterde	Siria, Turquía
	<i>O. brevidens</i> (Bornmüller) Dinsmore	Turquía
	<i>O. haussknechtii</i> Boissier	Turquía
	<i>O. leptocladum</i> Boissier	Turquía
<i>Longitubus</i> Iestwaart	<i>O. rotundifolium</i> Boissier	Turquía
	<i>O. amanum</i> Post	Turquía

Fuente: Kokkini (1997), Skoula & Harborne (2002)

*Especies, subespecies, variedades

Tabla 1.2 – Clasificación taxonómica del género *Origanum* y su distribución geográfica: Grupo B

Sección	Especie*	Distribución
<i>Chilocalyx</i> (Briquet) Iestwaart	<i>O. bigleri</i> Davis	Turquía
	<i>O. micranthum</i> Vogel	Turquía
	<i>O. microphyllum</i> (Bentham) Vogel	Creta
	<i>O. minutiflorum</i> Schwarz et Davis	Turquía
<i>Majorana</i> (Miller) Bentham	<i>O. majorana</i> Linnaeus	Cyprus, Sur de Turquía
	<i>O. onites</i> Linnaeus	Grecia, Sicilia, Turquía
	<i>O. syriacum</i> Linnaeus	Turquía,
	<i>O. syriacum</i> var. <i>syriacum</i>	Israel, Jordania, Siria
	<i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i> (Holmes) Iestwaart	Cyprus, Siria, Turquía, Líbano
	<i>O. syriacum</i> var. <i>sinaicum</i> (Boissier) Iestwaart	Península Sinaí

Fuente: Kokkini (1997), Skoula & Harborne (2002)

*Especies, subespecies, variedades

Tabla 1.3 – Clasificación taxonómica del género *Origanum* y su distribución geográfica: Grupo C

Sección	Especie*	Distribución
<i>Campanulaticalyx</i> Iestwaart	<i>O. dayi</i> Post	Israel
	<i>O. isthmicum</i> Danin	Norte de Sinai
	<i>O. ramonense</i> Danin	Israel
	<i>O. petraeum</i> Danin	Jordania
	<i>O. punonense</i> Danin	Jordania
	<i>O. jordanicum</i> Danin et Kuenne	Jordania
<i>Elongatispica</i> Iestwaart	<i>O. elongatum</i> (Bonnet) Emberger et Maire	Marruecos
	<i>O. floribundum</i> Munby	Algeria
	<i>O. grosii</i> Pau et Font Quer ex Iestwaart	Marruecos
	<i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> Linnaeus	Europa, Irán, India, China
<i>Origanum</i>	<i>O. vulgare</i> ssp. <i>Glandulosum</i> (Desfontaines) Iestwaart	Argelia, Tunez
	<i>O. vulgare</i> ssp. <i>gracile</i> (Koch) Iestwaart	Afganistán, Irán, Turquía, sur de Siberia
	<i>O. vulgare</i> ssp. <i>Hirtum</i> (Link) Iestwaart	Grecia, Turquía, Albania, Croacia
	<i>O. vulgare</i> ssp. <i>viride</i> (Boissier) Hayek	Afganistán, China, Croacia, Irán, Francia, Grecia, Indi
	<i>O. vulgare</i> ssp. <i>Virens</i> (Hoffmannsegg et Link) Iestwaart	Italia, Paquistán
		Islas Azores, Baleares y Canarias, Madeira, Marrueco
<i>Prolaticorolla</i> Iestwaart	<i>O. compactum</i>	Portugal, España
	<i>O. ehrenbergii</i>	Marruecos, España
	<i>O. laevigatum</i>	Libano Turquía

Fuente: Kokkimi (1997), Skoula & Harborne (2002)

*Especies, subespecies, variedades

Tabla 1.4 – Híbridos de orégano: su origen y localización

Híbrido	Origen	Localización
<i>O. x adonidis</i>	<i>O. libanoticum</i> x <i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i>	Líbano
<i>O. x applii</i>	<i>O. majorana</i> x <i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Cultivado ^a
<i>O. x barbarae</i>	<i>O. ehrenbergii</i> x <i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i>	Líbano
<i>O. x dolichosiphon</i>	<i>O. amanum</i> x <i>O. laevigatum</i>	Turquía
<i>O. x hybridinum</i>	<i>O. dictamnus</i> x <i>O. sipyleum</i>	Cultivado ^a
<i>O. x intercedens</i>	<i>O. onites</i> x <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grecia – Turquía
<i>O. x intermedium</i>	<i>O. onites</i> x <i>O. sipyleum</i>	Turquía
<i>O. x liriium</i>	<i>O. scabrum</i> x <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grecia
<i>O. x majoricum</i>	<i>O. majorana</i> x <i>O. vulgare</i> ssp. <i>virens</i>	España – Portugal
<i>O. minoanum</i>	<i>O. microphyllum</i> x <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grecia
<i>O. x pabotii</i>	<i>O. bargyli</i> x <i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i>	Siria
<i>O. symeonis</i>	<i>O. laevigatum</i> x <i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i>	Turquía
<i>O. amanum</i> x <i>dictamnus</i>	<i>O. amanum</i> x <i>O. dictamnus</i>	Cultivado ^b
<i>O. calcaratum</i> x <i>dictamnus</i>	<i>O. calcaratum</i> x <i>O. dictamnus</i>	Creta
<i>O. micranthum</i> x <i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	<i>O. micranthum</i> x <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Turquía
<i>O. sipyleum</i> x <i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	<i>O. sipyleum</i> x <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Turquía
<i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> x <i>Thymus</i> sp.	<i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> x <i>Thymus</i> sp.	Austria

Fuente: Ietswaart, 1980

O.: *Origanum*

^a híbrido natural (cultivado)

^b híbrido artificial (cultivado)

USOS Y PROPIEDADES DEL ORÉGANO

El orégano se utiliza principalmente como condimento (Di Fabio, 2005; Arizio *et al.*, 2006; Lenardis *et al.*, 2006; Dambolena *et al.*, 2010; Farías *et al.*, 2010). Se emplea como aromatizante de diversas formulaciones de licores, salsas de tomate y productos horneados (como pizzas y panes) y en aderezos para ensaladas (Korukluoglu *et al.*, 2009; Koksál, *et al.*, 2010; Farías *et al.*, 2010).

Como hierba medicinal se destacan sus propiedades antiespasmódicas, estimulantes, expectorantes, estomáquicas, diuréticas, antisépticas y cicatrizantes (Muñoz, 2000; Varela *et al.*, 2007; Arias Toledo, 2009). Estudios farmacológicos demostraron la actividad colerética, espasmolítica y antihipertensiva del orégano (Baser, 2008). Se lo utiliza también como calmante (en pomadas y compresas alivia dolores reumáticos) (Skoula y Kamenopoulos, 1997; Arizio *et al.*, 2006) y en la industria cosmética para elaboración de perfumes y jabones (Vági *et al.*, 2005; Radusiene *et al.*, 2006; Korukluoglu *et al.*, 2009; Koksál, *et al.*, 2010; Farías *et al.*, 2010).

También se ha reportado la actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral de los aceites esenciales de orégano (Jerkovic *et al.*, 2001; Kofidis *et al.*, 2003; Bernath *et al.*, 2005; Koksál, *et al.*, 2010). Al respecto, se ha observado una fuerte actividad antibacteriana contra distintas especies pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y *Streptococcus* (Sahin *et al.*, 2004; Leite de Souza *et al.*, 2009) y su efecto inhibidor sobre *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, *Brucella abortus* y *Helicobacter pylori* (Sahin *et al.*, 2004; Lin *et al.*, 2005; Coelho da Costa *et al.*, 2009). En cuanto a la actividad antifúngica, se destaca el efecto biocida sobre distintas especies pertenecientes al género *Candida* (Sahin *et al.*, 2004; Brum Cleff *et al.*, 2010) lo que muestra al aceite esencial del orégano como un potencial tratamiento alternativo de la candidiasis (Brum Cleff *et al.*, 2010). Se ha observado el mismo efecto inhibidor sobre hongos pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* y *Trichophyton* (Sahin *et al.*, 2004).

En la industria alimenticia cobran especial importancia las propiedades antimicrobianas y antioxidantes de los aceites esenciales del orégano (Milos *et al.*,

2000; Heilerová *et al.*, 2003; Tsimogiannis *et al.*, 2006; Bhale *et al.*, 2007; Dambolena *et al.*, 2010), en la medida en que pueden ser utilizados como conservantes naturales que permiten prolongar la vida útil de los alimentos, especialmente aquellos ricos en grasas poli-insaturadas (Vági *et al.*, 2005; Lagouri y Nisteropoulou, 2009). Los aceites esenciales reducen la oxidación e inhiben la proliferación de microorganismos en carnes (Lin *et al.*, 2004; Govaris *et al.*, 2010), embutidos (Cardona Henao y Mejía, 2009), peces y moluscos (Lin *et al.*, 2004; Goulas y Kontominas, 2007; Atrea *et al.*, 2009) y frutas (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2006; Musa Özcan *et al.*, 2008).

Por otra parte, se ha probado el efecto insecticida y acaricida del orégano, que ha mostrado tener acción inhibitoria contra la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y la arañuela roja (*Tetranychus* sp) (Çalmasur *et al.*, 2006; Sertkaya *et al.*, 2010) y contra la mosca de Hess (Lamiri *et al.*, 2001). Estudios recientes revelan también las características biocidas del aceite de orégano sobre huevos e individuos adultos de la especie *Pediculus humanus capitis* (piojo), lo que muestra el potencial uso de esta planta como pediculicida (Yang *et al.*, 2009).

PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE ORÉGANO

A nivel mundial, los principales productores y exportadores de orégano son Turquía (Baser, 2008; Koksal *et al.*, 2010), Grecia, Israel, Albania, Indonesia y Egipto (Musa Özcan *et al.*, 2008; Koksal *et al.*, 2010). En Latinoamérica, tradicionalmente lo son México, Chile y Perú (Arizio *et al.*, 2006; Arizio *et al.*, 2007; Musa Özcan *et al.*, 2008; Koksal *et al.*, 2010).

En el ámbito nacional, la producción de esta especie aromática ha atravesado distintas situaciones. Entre los años 1987 y 1989, la producción nacional alcanzaba a cubrir casi totalmente la demanda interna, con fluctuaciones de un año a otro en los que se registraban pequeños volúmenes de importación o excedentes destinados a la exportación hacia países limítrofes (Arizio *et al.*, 2007).

En contraste con lo que ocurría en la década del '80, años en que las importaciones de orégano eran esporádicas y de volúmenes despreciables, durante los años '90 la demanda de orégano se cubría casi totalmente con producto importado

principalmente de Chile y Perú. Esta situación condujo a la caída de la producción nacional y transformó al orégano en la principal hierba aromática importada, limitando los bajos niveles de exportación a material procesado (producto con mayor valor agregado) (Arizio *et al.* 2007).

En el 2001, la devaluación de la moneda local marcó la disminución de las importaciones, pasando de las 1000 toneladas en ese año a 378 toneladas importadas en 2002. Entre 2003 y 2004, las importaciones comenzaron a incrementarse, mientras que la producción nacional todavía no alcanza a recuperarse; pero el tipo de cambio (competitivo para las exportaciones) determinó un crecimiento de la producción nacional que, lentamente, comenzó a satisfacer la demanda del mercado interno dejando pequeños saldos exportables. Sin embargo, en el transcurso de 2005 y 2006, continuaron registrándose importaciones provenientes de Chile y Perú (Arizio *et al.*, 2007).

Durante 2006, el crecimiento de la producción local de orégano comenzó a hacerse evidente (Caempa, 2006; Arizio *et al.*, 2007) debido, principalmente, al aumento de la superficie implantada, a la mejora de la calidad y al mayor rendimiento de la hierba deshidratada (Arizio *et al.*, 2007).

Si bien hasta la fecha se continúa importando orégano, a partir de 2006 esta especie se ubica entre las principales hierbas aromáticas exportadas. En ese año, el orégano ocupó el segundo lugar entre las hierbas de mayor demanda, con un volumen exportado que representó el 20% del total de las exportaciones de especies aromáticas (Maggi, 2008a). En 2007, el volumen de orégano exportado representó el 27% del volumen total de exportación, convirtiéndose en el principal producto aromático exportado (Maggi, 2008a); esta situación se repitió en el período enero-mayo de 2008, durante el cual el volumen de esta especie exportado ascendió al 70% del total de las exportaciones de hierbas aromáticas (Maggi, 2008b). En 2009, el orégano se ubicó en tercer lugar dentro de las hierbas exportadas con mayor demanda, representando el 17,4% del total de las exportaciones (Parra y Cameroni, 2009). La misma posición ocupó en el período comprendido entre los meses de enero y mayo de 2010, lo que se traduce en el 8% del volumen total de productos aromáticos exportados (Cameroni, 2010).

ORIGEN DE LAS IMPORTACIONES

Históricamente, las importaciones de orégano han provenído principalmente de Chile y Perú, aunque entre 2002 y 2005 también se registraron importaciones desde Bolivia y en 2004 desde Turquía y España (Arizio *et al.*, 2007). Durante el año 2007, se importaron algo más de 400 toneladas de orégano, de las cuales el 56% procedía de Chile (Maggi, 2008a), el mismo origen que tuvieron las importaciones del año 2008 (Maggi, 2008b y c). Durante el primer cuatrimestre de 2009, se introdujeron 227,6 toneladas de orégano, de las cuales el 77,6% corresponde a producto importado de Chile y el 22,4% de Perú (Parra y Cameroni, 2009a). En el período enero-mayo de 2009 se adquirieron 282 toneladas provenientes casi totalmente de Chile (99,4%), y el resto (0,6%) de Bolivia (Parra y Cameroni, 2009b). De las importaciones de orégano efectuadas durante los meses de enero y febrero de 2010, el 82,5% del volumen tuvo como país de origen Chile (Cameroni, 2010).

DESTINO DE LAS EXPORTACIONES

Durante los años 80s y 90s, las exportaciones de orégano, cuando las hubo, tuvieron como destino principal a los países limítrofes (Arizio *et al.*, 2007).

En el año 2002, España, Francia y Alemania se constituyen en los principales importadores del orégano producido en el país, adquiriendo el 45,6%, el 21,1% y el 18,4 del volumen exportado, respectivamente. El 93,4% del volumen de orégano exportado durante el 2003 tuvo como destino Francia. En 2004, los principales compradores de esta hierba fueron España (74,3%), Alemania (14,5%) y EEUU (4,7%). Durante 2005, nuevamente España aparece como el principal destino de exportación, concentrando el 37,3% del orégano exportado, seguido por Brasil (25%), Uruguay (16,1%) y Chile (11,2%). En el 2006, Brasil se convierte en el principal comprador de esta especie aromática, adquiriendo el 50,9% del volumen total, seguido por Chile (28,7%) y España (9,9%) (Arizio *et al.*, 2007).

Durante 2007, las exportaciones de orégano se dirigieron principalmente a Brasil (38%), Alemania (18%) y EEUU (14%) (Maggi, 2008a). Entre enero y mayo de 2008, los principales compradores fueron Brasil (17,5%), Italia (15%) y Alemania (8,9%)

(Maggi, 2008b) y entre mayo y agosto de 2008, nuevamente Brasil se posicionó como el primer destinatario del orégano exportado concentrando el 52% del volumen, seguido por España (15%) y Uruguay (12%) (Maggi, 2008c). Durante el primer semestre de 2009, Brasil se mantuvo como principal importador del orégano argentino, comprando el 23,9% del volumen total, seguido por Alemania (21,5%), Italia (12%) y Sudáfrica (destino poco común que se quedó con el 7,7% del orégano exportado) (Parra y Cameróni, 2009).

Con respecto a las exportaciones realizadas entre los meses de enero y mayo de 2010, el 77% del volumen total de orégano exportado tuvo como principales destinos Brasil (44%) y Paraguay (33%) (Cameróni, 2010)

SITUACIÓN ACTUAL DEL CULTIVO DE ORÉGANO EN ARGENTINA

Si bien en los últimos años la producción nacional de orégano alcanzó a cubrir la demanda del mercado interno, dejando márgenes crecientes de producción destinados a la exportación (Caempa, 2008), el cultivo aún se ve afectado por diferentes problemáticas. Por un lado, el orégano producido se cultiva sin tener en cuenta la variedad, la sanidad o las prácticas de cosecha y poscosecha que permitan conservar un producto con características organolépticas adecuadas y libre de contaminaciones. Además, existe una escasa identificación taxonómica y evaluación agronómica de los materiales vegetales en cultivo por lo que, actualmente, no es posible realizar una tipificación de la producción por variedad comercial.

En lo referente a enfermedades y plagas, aunque los aceites esenciales tienen efectos tóxicos y/o repelentes sobre microorganismos e insectos (e inhiben la eclosión de los huevos de estos últimos) (Kofidis *et al.*, 2003), los cultivos de orégano en Argentina se ven afectados por algunas enfermedades y plagas. Una de las patologías más importantes que afecta al cultivo es el tizón foliar (*Alternaria alternata*) que, aunque no se manifiesta todos los años, le produce severos daños (Di Fabio, 2005; Arizio *et al.*, 2006). Se menciona además la ocurrencia de manchas foliares causadas por *Colletotrichum dematium*, el ataque de *Phoma herbarum* y *Rhizoctonia solani*, la podredumbre gris producida por la presencia *Botritis cinerea* (tizón) y *Puccinia*

rubsaaameni (roya de la hoja) y la aparición de oídio ocasionada por *Erysiphe galeopsidis* (Piccolo, 2000; Di Fabio, 2005; Arizio *et al.*, 2006). También se ha registrado alta mortandad de plantas en coincidencia con la presencia de *Fusarium* sp. y *Phytophthora* sp. (Di Fabio, 2005; Gaetán *et al.*, 2007; Baglio *et al.*, 2009). En algunas zonas de cultivo, la producción orégano se ve dañada, además, por la presencia de nemátodos pertenecientes principalmente del género *Meloidogyne* (Di Fabio, 2005; Tolocka *et al.*, 2008; Doucet *et al.*, 2008; Tolocka *et al.*, 2009). En cuanto al ataque de insectos, el cultivo de orégano puede verse afectado por áfidos (Aphididae), minadores de la hoja (*Lyriomiza* spp.) y trips (*Thripidae*) (Makri, 2002). También se puede mencionar la hormiga negra común (*Acromirmex lundi*) como una fuerte predadora y se ha observado la presencia de la mosquita blanca (*Bemisia* spp.).

Con respecto a la presencia de virosis, la bibliografía cita al virus del mosaico de la alfalfa (AMV) (Di Fabio, 2005) y al virus del mosaico de las cucurbitáceas (CMV) como virus que afectan al cultivo de orégano y que son transmitidos por áfidos (Piccolo, 2000; Arizio *et al.*, 2006).

Por su parte, los métodos de propagación vegetativa tradicionalmente utilizados para la multiplicación de orégano (que se lleva a cabo sin selección ni saneamiento del material inicial) conducen al deterioro de los cultivos debido, entre otras causas, a la acumulación de enfermedades sistémicas (bacterianas, virósicas y fúngicas) y favorecen la transferencia de estas enfermedades a las nuevas explotaciones, que se inician con grandes desventajas productivas [pérdida de rendimiento y calidad del producto (Cassells y Long, 1982)] e iguales costos que un cultivo sano. Una herramienta ampliamente utilizada para el saneamiento de especies de multiplicación agámica es el cultivo de tejidos meristemáticos, técnica que permite recuperar plantas libres de patógenos (Abdelnour-Esquivel *et al.*, 2006; Panta y Golmirzaie, 2008). Luego, mediante la micropropagación *in vitro* de las plantas saneadas, es posible obtener un gran número de individuos (clones), de manera rápida e independientemente de las condiciones ambientales. Debido a que la respuesta *in vitro* está fuertemente influenciada por el genotipo, es necesario ajustar las condiciones de micropropagación para cada uno de ellos en particular, a fin de optimizar la eficiencia de la técnica.

A partir de los clones obtenidos por multiplicación *in vitro* es posible establecer cultivos homogéneos, que permitan llevar a cabo la evaluación a campo de los materiales. Al respecto, los antecedentes en el país y la bibliografía son escasos.

Dada la importancia y el gran valor comercial del cultivo de orégano, tanto a nivel nacional como internacional, surge la necesidad de llevar a cabo un relevamiento de las poblaciones, cultivares y/o clones de orégano que se están utilizando, acompañado de su identificación morfológica, fenológica, genética y del estudio de sus aceites esenciales para conocer el material presente en Argentina y poder planificar a partir de esta información un desarrollo organizado y competitivo de esta especie aromática.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

La adecuada caracterización e identificación botánica de los genotipos de orégano utilizados como material de plantación en Argentina, evaluado en distintos ambientes, y la generación de materiales de partida sanos son indispensables para incrementar la productividad del cultivo de orégano.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar los genotipos de orégano saneado utilizados como material de propagación en Argentina y determinar la variabilidad inter e intrapoblacional existente para caracteres de importancia agronómica y su interacción con el ambiente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Recolectar clones de orégano provenientes de las principales zonas de producción del país.
- 2) Ajustar un protocolo de obtención de meristemas y multiplicación rápida *in vitro* para el material recolectado (micropropagación).
- 3) Evaluar la respuesta de cada genotipo a las condiciones de cultivo *in vitro* y establecer un protocolo de conservación *in vitro* para los mismos.

4) Evaluar comparativamente los distintos genotipos en tres localidades diferentes: Capilla de los Remedios (Córdoba), Potrero de Garay (Córdoba) y La Consulta (Mendoza).

5) Caracterizar genotipos de orégano representativos de las principales zonas de producción del país a través de variables de importancia agronómica.

6) Establecer los caracteres con valor discriminante entre los genotipos de orégano evaluados y las interacciones genotipo x ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdelnour-Esquivel, A.; Bermúdez, L. C.; Alvarenga, S. y C. Rivera. 2006. Cultivo de meristemas, termo y quimioterapia en chayote (*Sechium edule* Jacq. Sw.) para la erradicación del virus del mosaico del chayote (ChMV). Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) No. 77.
- 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. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 8 (5): 389 – 401.
- Arizio, O.; Curioni, A.; Sanchez Vallduvi, G. y M. García. 2006. II. El cultivo de orégano (*Origanum* sp). En: Plantas Aromáticas y Madicinales: Labiadas. Curioni-Arizio (Eds). Editorial Hemisferio Sur, pp 57-92.
- Arizio, O. P.; Motta, G. J. y A. O. Curioni. 2007. Argentina: de importar a exportar orégano. Asociación Argentina de Economía Agraria. Publicado en internet, disponible en: <http://www.cappama.org.ar>. Activo agosto 2010.
- Atrea, I.; Papavergou, A.; Amvrosiadis, I. and I. N. Savvaidis. 2009. Combined effect of vacuum-packaging and oregano essential oil on the shelf-life of Mediterranean octopus (*Octopus vulgaris*) from the Aegean Sea stored at 4° C. Food Microbiology 26: 166-172.
- Baglio, C.; Bauzá, P.; Bastías, J.; Lienaux, F.; Locatelli, D.; Amadio, C. y P. Tolocka. 2009. Resultados red nacional de ensayos de orégano. Parcela La Consulta, San Carlos. XXXII Congreso Argentino de Horticultura. 23 – 26 de Septiembre de 2009. Salta, Argentina
- Baser, K. H. C. 2002. Part III - Taxonomy and chemistry: The Turkish *Origanum* species. In: Oregano: The genera *Origanum* and *Lippia*, pp 109-126.
- Baser, K. H. C. 2008. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. Current Pharmaceutical Desing 14: 3106-3120.
- Bernath, J.; Novak, I.; Szabo, K. and Z. Seregély. 2005. Evaluation of selected oregano [*Origanum vulgare* L. ssp *hirtum* (Ietswaart)] lines with traditional methods and sensory analysis. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 11 (4): 19-26
- Bhale, S. D.; Xu, Z.; Prinyawiwatkul, W.; King, J. M. and J. S. Godber. 2007. Oregano and rosemary extracts inhibit oxidation of long-chain n-3 fatty acids in menhaden oil. Journal of Food Science 7 (9): 504-508.
- Brum Cleff, M.; Meinerz, A. R.; Xavier, M.; Schuch, L. F.; Araújo Meireles, M. C.; Alves Rodrigues, M. R. and J. R. Braga de Mello. 2010. *In vitro* activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida* species. Brazilian Journal of Microbiology 41: 116-123.
- Caempa (Cámara Argentina de Especies, Molineros de Pimentón y Afines). 2006. El “boom” del orégano. Informe: situación del comercio del orégano. Publicado en internet, disponible en <http://www.caempa.com.ar>. Activo agosto de 2010.
- Caempa (Cámara Argentina de Especieros, Molineros de Pimentón y Afines). 2008. Informe. X Reunión Técnica, Foro de Orégano Argentino. Alta Gracia, Córdoba – Argentina.
- Çalmasur, Ö.; Aslan, I. and F. Sahin. 2006. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oil against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Industrial Crops and Products 23 (2): 140-146.

- Cameroni, M. G. 2010. Hierbas Aromáticas y Especies – Informe Sectorial N° 2. Mayo-Junio 2010. Publicado en internet, disponible en: www.alimentosargentinos.gov.ar/especies. Activo agosto 2010.
- Cardona Henao, E. y F. Mejía. 2009. Evaluación del efecto antioxidante de aceites esenciales y extractos de *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris*. *Biosalud* 8: 58-70.
- Cassells, A. C. and R. D. Long. 1982. The elimination of potatoe viruses X, Y, S, and M in meristems and explants cultures of potatoe in presence of virasole. *Potatoe Research* 25: 165-173.
- Coelho da Costa, A.; Cavalcanti dos Santos, B. H; Santos Filho, L. and E. Oliveira Lima. 2009. Antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) against bacterial multiresistant strains isolated from nosocomial patients. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 19: 236-241
- Dambolena, J. S.; Zunino, M. P.; Lucini, E. I.; Olmedo, R.; Banchio, E.; Bima, P. J. and J. A. Zygodlo. 2010. Total phenolic content, radical scavenging properties and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. *J. Agric. Food Chem.* 58: 1115-1120.
- Di Fabio, A. 2005. El cultivo y su efecto sobre la calidad en orégano. Publicado en internet, disponible en: www.caempa.com.ar. Activo agosto 2010
- Doucet, M. E.; Lax, P.; Tolocka, P. A. y P. J. Bima. 2008. Reconocimiento de nematodos fitófagos en cultivos de orégano de Córdoba y Mendoza (Argentina). 30 de septiembre al 03 de octubre en Mar del Plata, Argentina. Libro de resúmenes: 34. (Resumen) XXXI Congreso Argentino de Horticultura.
- Fariás, G.; Brutti, O.; Grau, R.; Di Leo Lira, P.; Retta, D.; van Baren, C.; Vento, S. y A. L. Bandoni. 2010. Morphological, yielding and quality descriptors of four clones of *Origanum* sp (Lamiaceae) from Argentine Litoral Region Germplasm Bank. *Industrial Crops and Products* (en prensa), doi: 10.1016/j.incrop.2010.06.019.
- Gaetán, S. A.; Madia, M. S. y A. O. Curioni. 2007. Especies del género *Fusarium* asociadas al declinamiento del orégano en la Argentina. *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromáticas* 6 (6): 342 – 343.
- Goulas, A. and M. G. Kontominas. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 100: 287-296.
- Govaris, A.; Solomakos, N.; Pexara, A. and P. S. Chatzopoulou. 2010. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Samonella enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology* 137: 175-180.
- Guerra Ordóñez, M.; Torres Idavoy, D. y L. Martínez Pol. 2001. Validación del uso tradicional de plantas medicinales cultivadas en Cuba. *Rev. Cubana Plant. Med.* 2: 48-51.
- Heilerová, L.; Bucková, M.; Tarapcik, P.; Silhar, S. and J. Labuda. 2003. Comparison of antioxidative activity data for aqueous extracts of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by conventional methods and DNA-based biosensor. *Czech. J. Food Sci.* 21: 78-84

- Ietswaart, J.H. 1980. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (*Labiatae*). Tesis Doctoral. Leiden Univ. Press. pp
- Kintzios, S. E. 2002. Part I – Introduction: Profile of the multifaceted prince of the herbs. In: *Oregano: The genera Origanum and Lippia*. S. E. Kintzios (ed). Taylor & Francis, pp 3-8.
- Kodifis, G.; Bosabalidis, A. M. y M. Moustakas. 2003. Contemporary seasonal and altitudinal variations of leaf structural features in oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany* 92: 635-645
- Kokkini, S. 1997. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In: *Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano*. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 2-12.
- Koksal, O.; Gunes, E.; Orkan Ozer, O. and M. Ozden. 2010. Analysis of effective factors on information sources at Turkish oregano farms. *African Journal of Agricultural Research* 5 (2): 142-149.
- Korukluoglu, m.; Gurbuz, O.; Sahan, Y.; Yigit, A.; Kacar, O. and R. Rouseff. 2009. Chemical characterization and antifungal activity of *Origanum onites* L. essential oils and extracts. *Journal of Food Safety* 29: 144-161.
- Lagouri, V. and E. Nisteropoulou. 2009. Antioxidant properties of *O. onites*, *T. vulgaris* and *O. basilicum* species grown in Greece and their total phenol and rosmarinic acid content. *Journal of Food Lipids* 16: 484-498.
- Lamiri, A.; Lhaloui, S.; Benjilali, B. and M. Berrada. 2001. Insecticidal effects of essential oils against hessian fly (*Mayetiola destructor* Say). *Field Crops Research* 71: 9-15.
- Leite de Souza, E.; Carneiro de Barros, J.; Lúcia da Conceicao, M.; Gomes Neto, N. J. and A. C. Vieira da Costa. 2009. Combined application of *Origanum vulgare* L. essential oil and acetic acid for controlling the growth of *Staphylococcus aureus* in foods. *Brazilian Journal of Microbiology* 40: 387-393.
- Lenardis, A. E.; Gil, A. y C. Morvillo. 2006. Capítulo 4.3: Orégano. En: *Cultivos Industriales*. Editorial Facultad de Agronomía – UBA. Buenos Aires, Argentina, pp 509-544.
- Lin, Y. T.; Labbe, R. G. and K. Shetty. 2004. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in fish and meat systems by use of oregano and cranberry phytochemical synergies. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 5672-5678.
- Lin, Y. T.; Kwon, Y. I.; Labbe, R. G. and K. Shetty. 2005. Inhibition of *Helicobacter pylori* and associated urease by oregano and cranberry phytochemical synergies. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 8558-8564.
- Maggi, E. 2008a. Sector Aromático – Informe de Coyuntura Febrero 2008. Publicado en internet. Disponible en: www.alimentosargentinos.gov.ar/especies. Activo agosto 2010.
- Maggi, E. 2008b. Sector Aromático – Informe de Coyuntura Julio 2008. Publicado en internet, disponible en: www.alimentosargentinos.gov.ar/especies. Activo agosto 2010.
- Maggi, E. 2008c. Sector Aromático – Informe de Coyuntura Octubre 2008. Publicado en internet, disponible en: www.alimentosargentinos.gov.ar/especies. Activo agosto 2010.
- Makri, O. 2002. Part IV – Cultivation and Breeding: Cultivation of Oregano. In: *Oregano: The genera Origanum and Lippia*, pp 153-162. S. E. Kintzios (ed). Taylor & Francis.

- Milos, M.; Mastelic, J. and I. Jerkovic. 2000. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L. ssp *hirtum*). Food Chemistry 71: 79-83.
- Muñoz, F. 2000. Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, 365pp.
- Musa Özcan, M.; Arslan, D and A. O. Aydar. 2008. The use of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil and hydrosol in green olive fermentation. Braz. Arch. Biol. Technol. 51 (3): 601-605.
- Palacio Garcia - Nieto, L. 2000. Las plantas medicinales y aromáticas: una alternativa de futuro para el desarrollo rural. Boletín Económico de ICE N° 2652: 29 – 40.
- Panta, A. y A. Golmirzaie. 2008. Fascículo 4.2: Cultivo de Tejidos para la Eliminación de Patógenos con fines de Producción de Semilla de Papa. En: Producción de Tubérculos-Semillas de Papa, Manual de Capacitación Pp 97 Centro Internacional de la Papa (CIP).
- Parra, P. y M. G. Cameroni. 2009. Área Hierbas Aromáticas y Especies – Informe de Coyuntura Mensual Agosto 2009. Publicado en internet. Disponible en: www.alimentosargentinos.gov.ar/especies. Activo agosto 2010.
- Piccolo, R. J. 2000. Manejo y control de enfermedades en cultivos de especies aromáticas. EEA La Consulta – INTA, Mendoza, Argentina.
- Radusiene, J.; Peciulyte, D. and V. Janulis. 2006. Variability and antimicrobial activity of *Origanum vulgare* subsp *vulgare* essential oil. In: Proc. 1st IC on Labiatae. B. Ruffoni (Ed.). Acta Hort. 723, ISHS.
- Raybaudi-Massilia, R. M.; Soliva Fortuna, R. y O. Martín Belloso. 2006. Uso de agentes microbianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. En: Proc. I Simposio Ibero-Americano de Vegetales Frescos Cortados, SP, Brasil. pp 15-21.
- Rouquaud E. y M. Videla. 2000. Oréganos de Mendoza (Argentina). Rev. Fac. Cs. Agrarias. 32 (2): 23 - 32.
- Sahin, F.; Güllüce, M.; Daferera, D.; Sökmen, A.; Sökmen, M.; Polissiou, M.; Agar, G. and H. Özer. 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control 15: 549-557.
- Sertkaya, E.; Kaya, K. and S. Soyulu. 2010. Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: *Tetranychidae*). Industrial Crops and Products 31 (2010) 107–112.
- Skoula, M. and J. B. Harborne. 2002. Part III - Taxonomy and chemistry: The taxonomy and chemistry of *Origanum*. In: Oregano: The genera *Origanum* and *Lippia*, pp 67-108. S. E. Kintzios (ed). Taylor & Francis.
- Skoula, M. and S. Kamenopoulos. 1997. *Origanum dictamnus* L. and *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart: Traditional uses and production in Greece. In: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 26 – 32.
- Tolocka P. A.; Doucet, M. E.; Lax P. & Bima P. J. 2008. Relevamiento de nematodos fitófagos en dos plantaciones de orégano en Argentina. 28 al 30 de mayo, Córdoba, Argentina. Libro de resúmenes: 347. (Resumen). 1^{er} Congreso Argentino de Fitopatología

- Tolocka, P.A.; Doucet, M. E.; Lax, P. y P. J. Bima. 2009. Reacción del orégano “Mendocino” (*Origanum x majoricum*) frente a una población del género *Meloidogyne* en Argentina. XXXII Congreso Argentino de Horticultura. 23 – 26 de Septiembre de 2009. Salta, Argentina
- Tsimogiannis, D.; Stavrakaki, M. And V. Oreopoulou. 2006. Isolation and characterization of antioxidant components from oregano (*Origanum heracleoticum*). International Journal of Food Science and Techonology 41: 39-48.
- Vági, E.; Simándi, B.; Suhajda, Á. and É. Héthelyi. 2005. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. Extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. Food Research International 38: 51-57.
- Vallejo Villalobos, J. R.; Pardo de Santayana, M. y D. Peral Pacheco. 2009. La historia de la fitoterapia en Egipto: un campo abierto a múltiples disciplinas. Medicina Naturista 3 (2): 101 – 105.
- Varela, B. G.; Ganapol, M. J. y Gurni, A. A. 2007. Estudio anatómico preliminar en hojas de oréganos comercializados en la ciudad de Buenos Aires (Argentina). Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas 6 (6): 388-389.
- Xifreda, C. 1983. Sobre oréganos cultivados en Argentina. Kurtziana 16: 133 - 148.
- Yang, Y. C.; Lee, S. H.; Marshall Clark, J. and Y. J. Ahn. 2009. Ovicidal and adulticidal activities of *Origanum majorana* essential oil constituents against insecticide-susceptible and pyrethroid/malathion resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). J. Agric. Food Chem. 57: 2282-2287.

CAPÍTULO 2

SANEAMIENTO Y MICROPROPAGACIÓN *IN VITRO*

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los oréganos que se cultivan en el país pueden multiplicarse sexualmente, debido a que producen semillas viables (Figura 2.1); pero el pequeño tamaño de las mismas dificulta su manejo y, al tratarse de especies alógamas, la descendencia resulta genéticamente heterogénea (Lenardis *et al.*, 2006), característica no deseada en un cultivo comercial (Di Fabio, 2005). Por esta razón, a nivel productivo el orégano se multiplica principalmente por división de matas o esquejes (multiplicación agámica) (Di Fabio, 2005; Lenardis *et al.*, 2006).

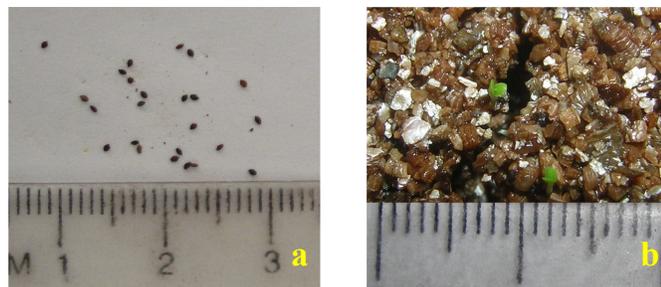


Figura 2.1 – Semillas de orégano (a) y plántulas (b) obtenidas a partir de la germinación de dichas semillas.

Los métodos de propagación vegetativos utilizados para la multiplicación del orégano se aplican sin llevar a cabo ningún tipo de selección y/o saneamiento del material inicial. Esto conduce al deterioro de los cultivos debido a la acumulación de enfermedades sistémicas (bacterianas, fúngicas y virósicas) y favorece la transferencia de las mismas a las nuevas explotaciones, que se inician con grandes desventajas productivas e iguales costos que un cultivo sano (Cassells y Long, 1982; Lenardis *et al.*, 2006). Además de afectar el rendimiento y la calidad del producto, las sucesivas multiplicaciones de materiales de baja calidad sanitaria afectan también la perennidad del cultivo (Lenardis *et al.*, 2006).

Una herramienta ampliamente utilizada para el saneamiento de especies de multiplicación agámica es el cultivo de tejidos meristemáticos (Hernández *et al.* 1997; Alvarado Rodríguez *et al.*, 2001; Reyes Padilla, 2001; Gil Vallacis, 2005; Abdelnour-Esquivel *et al.*, 2006; Sepúlveda Asprilla *et al.*, 2008; Digonzelli *et al.*, 2009). El cultivo *in vitro* de meristemas consiste en la escisión y aislamiento del ápice meristemático (domo apical más uno o dos primordios foliares) que, bajo condiciones de asepsia y de crecimiento adecuadas, permitirá el desarrollo de una nueva planta. Este método resulta efectivo para la eliminación de agentes patógenos sistémicos como virus, fitoplasmas, bacterias y hongos endógenos que causan pérdidas de calidad y reducciones significativas en el rendimiento de los cultivos (Abdelnour-Esquivel *et al.*, 2006, Sepúlveda Asprilla *et al.*, 2008; Vences-Contreras *et al.*, 2009). La técnica se fundamenta en el hecho de que existe una gran probabilidad de que los meristemas estén libres de virus (o que la concentración de los mismos sea muy baja) debido a que carecen de haces vasculares, a través de los cuales se propagan dichos microorganismos patógenos (Lago Castro, 1991). Además, la velocidad de crecimiento de los meristemas es mayor que la velocidad de multiplicación de los patógenos (Panta y Golmirzaie, 2008). Luego, mediante la micropropagación *in vitro* de las plantas saneadas, es posible obtener un gran número de individuos genéticamente homogéneos (Brunetti, 2008; Rojas Pérez *et al.*, 2008), de manera rápida e independientemente de las condiciones ambientales, utilizando espacios reducidos (Murashige y Skoog, 1962; Theilade *et al.*, 2007).

Por otra parte, el mantenimiento de las especies vegetales mediante el cultivo *in vitro* constituye una importante alternativa para la conservación de germoplasma (Silva *et al.*, 2001; Sepúlveda Asprilla *et al.*, 2008; Sánchez Chiang y Jiménez, 2010). La conservación *in vitro* de germoplasma cobra particular importancia cuando se trabaja con especies recalcitrantes, que no producen semillas viables o que tienen un grado elevado de heterocigosis y han sido seleccionadas por sus características en una población natural y deben ser mantenidos mediante propagación vegetativa (Iriando Alegría, 2001; Theilade *et al.*, 2007). Tal es el caso del orégano que, de reproducirse sexualmente, daría origen a cultivos muy heterogéneos. Además, el mantenimiento en cultivo *in vitro* facilita el intercambio de germoplasma (Sepúlveda Asprilla *et al.*, 2008; Sánchez Chiang y Jiménez, 2010).

El cultivo *in vitro* de plantas aromáticas se ha llevado a cabo en diversas especies pertenecientes a las familias *Lamiaceae* y *Verbenaceae*, estableciéndose exitosamente protocolos de micropropagación para plantas pertenecientes a los géneros *Rosmarinus* (Misra y Chaturvedi, 1984); *Salvia* (Kintzios *et al.*, 1999; Arikat *et al.*, 2004; Mederos-Molina, 2004; Misić *et al.*, 2006; Makunga y van Staden, 2008; Kaçar *et al.*, 2009; Bueno *et al.*, 2010), *Lavandula* (Tsuro *et al.*, 2001; Echeverrigaray *et al.*, 2005; Gonçalves *et al.*, 2008), *Ocimum* (Kintzios *et al.*, 2003 y 2004; Siddique y Anis, 2007; Shilpa *et al.*, 2010); *Hypericum* (Abreu *et al.*, 2003), *Mentha* (Faure *et al.*, 1998; Tisserat y Vaughn, 2008), *Minthostachys* (Castillo y Lordan, 1997; Bima *et al.*, 2006), *Hedeoma* (Koroch *et al.*, 1997; Brunetti, 2008; Díaz *et al.*, 2010), *Lippia* (Gupta *et al.*, 2001; Kintzios, 2002; Rojas Pérez *et al.*, 2008) y *Aloysia* (Severin *et al.*, 2010), entre otras.

En el caso particular del orégano (*Origanum* sp.), el desarrollo de protocolos de micropropagación tuvo como principales objetivos la producción de material homogéneo para el cultivo comercial y/o a la producción de aceites esenciales *in vitro* (Svoboda *et al.*, 1995; Kintzios, 2002; Bracamonte *et al.*, 2006; Fortunato *et al.*, 2006; El-Gengaihi *et al.*, 2006; Özkum y Tipirdamaz, 2007; Morone-Fortunato y Avato, 2008). Con respecto al saneamiento *in vitro* de la especie a través del cultivo de meristemas, los antecedentes son escasos (Goleniowski *et al.*, 2003; Torroba *et al.*, 2005).

En cuanto a la conservación de germoplasma de orégano, a nivel mundial se conocen colecciones y bancos de germoplasma en los cuales se mantienen tanto semillas como plantas cultivadas a campo (Kitiki, 1997; Leadly, 1997; Spada y Perrino, 1997; Martins Farias, 2002; Radušienė, 2002); mientras que los reportes referidos a la conservación *in vitro* son escasos (Attard, 2002; Baričević *et al.*, 2002). En nuestro país la conservación de germoplasma de orégano se limita a la preservación de materiales en condiciones de campo, no existiendo información referida a la existencia de bancos de semillas, por las limitaciones que presenta la multiplicación sexual (Bauzá, 2009, Com. Pers.; Fariás *et al.*, 2010). Ante esta situación el cultivo de tejidos vegetales se plantea como una alternativa para la conservación de germoplasma de orégano. El almacenamiento de germoplasma *in vitro* permite mantener colecciones en poco espacio

físico, protegido de la acción de agentes climáticos y libres de enfermedades y plagas (Iriondo Alegría, 2001; Silva *et al.*, 2001; Theilade *et al.*, 2007; González-Benito y Martín, 2010).

Teniendo en cuenta la problemática que afecta al cultivo de orégano en el país, y considerando que la mejora de la productividad está estrechamente relacionada con la calidad del material de partida, surge la necesidad de obtener plantas certificadas (que garanticen su calidad genética y sanitaria) y de mantener la calidad y uniformidad del material a través de la conservación de estas plantas en un banco de germoplasma. Disponer de material de propagación de alta calidad permitirá el desarrollo homogéneo de las plantaciones, facilitando el manejo y la cosecha del cultivo, lo que redundará en el mejoramiento de la productividad del cultivo de orégano.

Por lo expuesto anteriormente, previo a la evaluación y caracterización a campo de los distintos genotipos, surgió la necesidad de:

- 1) Recolectar clones de orégano provenientes de las principales zonas de producción del país.
- 2) Ajustar un protocolo de obtención de meristemas y multiplicación rápida *in vitro* para el material recolectado (micropropagación).
- 3) Evaluar la respuesta de cada genotipo a las condiciones de cultivo *in vitro* y establecer un protocolo de conservación *in vitro* para los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

Se recolectaron a campo plantas de orégano provenientes de 19 poblaciones, principalmente de las variedades de orégano "negrito", "mendocino", "criollo", "cordobés" y "compacto", que se cultivan en las principales zonas de producción del país (Córdoba, Mendoza y San Juan). Estos materiales fueron mantenidos en invernadero y posteriormente se utilizaron como plantas madres para obtener los brotes que fueron introducidos *in vitro* para su saneamiento (Tabla 2.1).

Tabla 2.1 – Origen de los 19 genotipos de orégano recolectados para su saneamiento, caracterización y evaluación.

Procedencia	Germoplasma
Mendoza	Criollo (Cr-Mza)
	Compacto (Cm-Mza)
	Mendocino (Me-Mza)
	Cordobés (Cd-Mza)
Córdoba	Clon 1 (C ₁ -FCA)
	Clon 2 (C ₂ -FCA)
	Clon 3 (C ₃ -FCA)
	Clon 5 (C ₅ -FCA)
	Clon 8 (C ₈ -FCA)
	Clon 9 (C ₉ -FCA)
	Negrito (NB-TS)
	Mendocino (Me-TS)
	Verde Limón (VL-TS)
San Juan	Negrito (Ne-TS)
	Criollo (Cr-SJ)
	Compacto (Cm-SJ)
	Negrito (Ne-SJ)
Buenos Aires	Mendocino (Me-SJ)
	Criollo (Cr-BA)

Mza: Mendoza; **FCA:** Facultad de Ciencias Agropecuarias; **TS:** Valle de Traslasierra; **SJ:** San Juan; **BA:** Buenos Aires

ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO *IN VITRO* Y CULTIVO DE MERISTEMAS

La introducción y el cultivo de meristemas y la micropropagación *in vitro* se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba (LBV-FCA).

A partir de las plantas de orégano recolectadas (Figura 2.2) se obtuvieron brotes nuevos, a razón de 10 brotes por cada clon, que fueron lavados durante una hora con agua corriente y luego desinfectados superficialmente en dos etapas:

-Etapa I: sumergiendo los explantos en una solución fungicida durante 1 hora en agitación;

-Etapa II: colocando el material primero en una solución de alcohol 70% por 1 minuto y luego en una solución de hipoclorito de sodio (lavandina comercial) al 15% (v/v) durante 10 minutos.

Al cabo de ambas etapas de desinfección los explantos se enjuagaron, durante 10 minutos, en agua destilada estéril bajo condiciones de asepsia provistas por la cámara de flujo laminar.



Figura 2.2 – Plantas madres de orégano a partir de las cuales se obtuvieron las estacas para llevar a cabo el saneamiento y la micropropagación de los clones: en invernadero (a), a campo (b y c)

Los brotes desinfectados se sembraron en tubos de ensayo conteniendo 10 ml de medio de cultivo MS (Murashige y Skoog 1962) (Figura 2.3) y luego fueron colocados a crecer en cámara de cría en condiciones controladas de temperatura (22° C) y fotoperíodo (16 hs de luz y 8 hs de oscuridad), con el fin de utilizarlos al cabo de 20 días para la extracción de meristemas. A partir de los brotes no contaminados en el paso anterior, se extrajeron los meristemas con los dos primeros primordios foliares bajo lupa, que se sembraron en tubos de ensayo con 10 ml de medio de cultivo MS adicionado con 0,1 mg l⁻¹ de ANA y 0,1 mg l⁻¹ de BA. Posteriormente fueron incubados en cámara de cría a 22°C de temperatura y fotoperíodo de 16 hs de luz. Durante esta etapa se observó el porcentaje de contaminación de los brotes, el porcentaje de meristemas oxidados, el porcentaje de estructuras amorfas (callos) y el porcentaje de meristemas que desarrollaron plántulas (Figura 2.4).

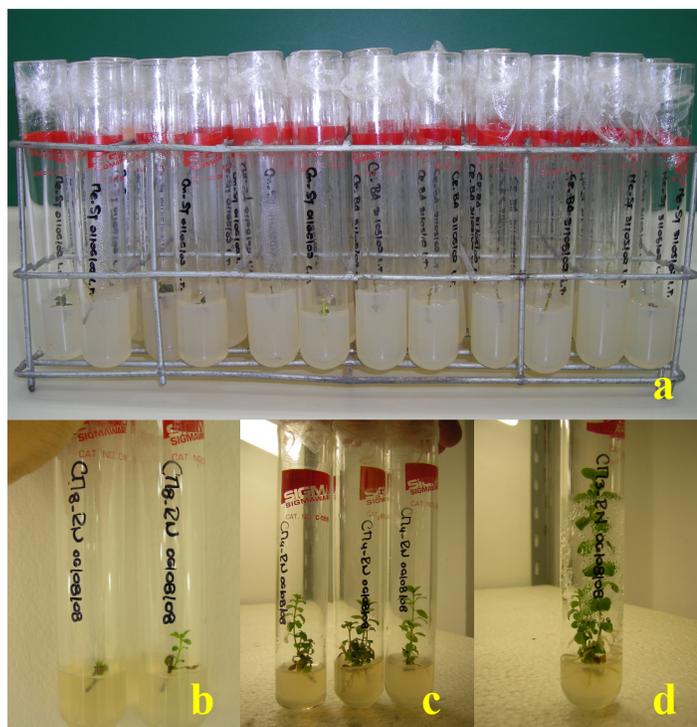


Figura 2.3 – Brotes de orégano desinfectados e introducidos *in vitro*: a los cero (a), siete (b) 15 (c) y 30 (d) días de cultivo.

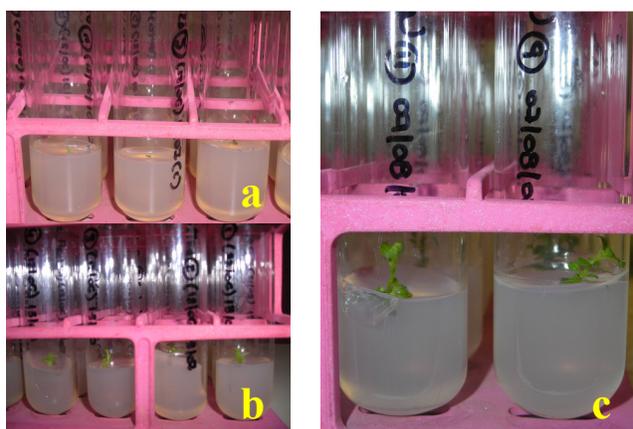


Figura 2.4 – Plántulas de orégano originadas a partir del cultivo de meristema: a los dos (a), 10 (b) y 20 (c) días de cultivo.

CRECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN *IN VITRO*

Las plántulas sanas, obtenidas a partir de los ápices meristemáticos, se multiplicaron por división de entrenudos o microesquejes (Figura 2.5). En esta etapa se ajustaron los protocolos puestos a punto para orégano “Mendocino” y “Negrito”

(Goleniowski *et al.* 2003; Bima *et al.* 2004; Torroba *et al.* 2005). Los microesquejes de cada genotipo fueron repicados cada 30 días con un doble propósito: multiplicar los distintos genotipos a fin de obtener las plantas que posteriormente serían valoradas a campo y llevar a cabo muestreos para evaluar los siguientes parámetros: prendimiento de explantos (%) (calculado como n° de explantos sobrevivientes/ n° de explantos introducidos*100); supervivencia de meristemas (%) (calculado como n° de meristemas sobrevivientes/ n° total de meristemas recuperados*100); longitud de plántula (cm); longitud de entrenudo (cm); número de microestacas.plántula⁻¹; peso fresco (g.plántula⁻¹); Peso seco (g.plántula⁻¹); contenido de agua [estimado como (peso fresco – peso seco)/peso fresco*100], contenido de fibra (calculado como peso seco/peso fresco*100); Presencia de raíces (si/no) y presencia de ramificaciones (si/no)



Figura 2.5 – Multiplicación de plántulas de orégano saneadas: (1) un día , (2) 7 días y (3) 30 días después de la multiplicación

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el fin de determinar si existen diferencias entre los clones, en cuanto a la supervivencia de los brotes introducidos *in vitro* y de meristemas recuperados, se llevó a cabo un análisis de regresión logística y un test de contingencia. Para evaluar las diferencias entre los clones en cuanto a su respuesta a las condiciones de crecimiento *in vitro*, los resultados obtenidos para cada una de las variables medidas y estimadas se analizaron a través de un ANAVA y las diferencias entre medias se determinaron mediante el test de comparación de medias a posteriori DGC (Di Rienzo *et al.*, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO *IN VITRO* Y CULTIVO DE MERISTEMAS

Al momento de comenzar con el cultivo *in vitro* (etapa de introducción) de los distintos clones de orégano, ya se encontraba ajustada la metodología de cultivo de meristemas para a los clones Negrito (Ne-TS y NB-TS), Mendocino (Me-TS) y Verde Limón (VL-TS) provenientes del Valle de Traslasierras (Dpto. San Javier, Córdoba), los cuales fueron introducidos con éxito durante el año 2006. A la fecha se encuentran en multiplicación (*in vitro*) plántulas de orégano pertenecientes a los clones NB-TS, Me-TS y VL-TS, mientras que las plántulas Ne-TS se perdieron por contaminación con bacterias.

Los 15 clones de orégano restantes fueron recolectados e introducidos *in vitro* durante marzo – julio de 2007. Si bien se logró el establecimiento *in vitro* de todos los materiales recolectados durante el mencionado período, los porcentajes de supervivencia fueron variables, con un rango de prendimiento de esquejes que osciló entre el 3,8% (clon Cr-SJ) y el 37,9% (clon C₈-FCA) (Tabla 2.2). Durante la etapa de introducción *in vitro*, C₂-FCA y C₈-FCA tuvieron un porcentaje de supervivencia de explantos significativamente superior al resto de los clones (30,0% y 37,9%, respectivamente), que no exhibieron diferencias entre si (Tabla 2.2).

En cuanto al porcentaje de meristemas sobrevivientes que pasaron a la etapa de multiplicación *in vitro*, el rango fue aún más variable (Tabla 2.2), observándose diferencias significativas entre los clones. Si bien se logró recuperar meristemas a partir de todos ellos, aquellos provenientes de los clones Me-SJ, Cr-BA y C₅-FCA se perdieron por oxidación de los tejidos. Por lo general, la oxidación afecta a los explantos durante las primeras etapas del cultivo *in vitro*, disminuyendo el potencial de multiplicación de las plántulas (Reyes Padilla, 2001). La oxidación de los tejidos es un proceso que ocurre debido a la presencia de compuestos fenólicos (Reyes Padilla, 2001; Afanador Pérez, 2005), cuya presencia y concentración se relacionan con el estado fisiológico de los tejidos (Concepción *et al.*, 2005). Dado que estos compuestos son constituyentes de los aceites esenciales del orégano, es importante planificar la

reintroducción de los clones que no lograron establecerse *in vitro* adicionando al medio de cultivo compuestos antioxidantes, como por ejemplo polivinilpolipirrolidona (Concepción *et al.*, 2005), o compuestos capaces de adsorber sustancias como el carbón activado (Rodríguez Reartes, com. pers.); utilizando además brotes jóvenes como explantos (Goleniowski *et al.*, 2003; Concepción *et al.*, 2005).

Tabla 2.2 – Porcentaje de supervivencia de explantos y meristemas obtenidos a partir de 15 clones de orégano.

Germoplasma	Prendimiento de explantos (%) ^a	Meristemas sobrevivientes (%) ^b
Cr-SJ	3,8 a	60,0 c
Cm-SJ*	5,2 a	25,0 b
Ne-SJ	8,9 a	66,7 c
Me-SJ.	5,1 a	0,0 a
Cr-Mza	15,2 a	50,0 c
Cm-Mza	13,3 a	52,9 c
Me-Mza	14,3 a	47,1 c
Cd-Mza	12,8 a	75,0 d
C ₁ -FCA	5,3 a	100,0 e
C ₂ -FCA	30,0 b	50,0 c
C ₃ -FCA	20,8 a	100,0 e
C ₅ -FCA	10,7 a	0,0 a
C ₈ -FCA	37,9 b	100,0 e
C ₉ -FCA	5,9 a	100,0 e
Cr-BA	5,9 a	0,0 a
Promedio	13,0	55,1

Cr-SJ: clon “Criollo”, **Cm-SJ:** clon “Compacto”, **Ne-SJ:** clon “Negrito”, **Me-SJ:** clon “Mendocino”, **C₁-FCA:** clon 1 **C₂-FCA:** clon 2, **C₃-FCA:** clon 3, **C₅-FCA:** clon 5, **C₈-FCA:** clon 8, **C₉-FCA:** clon 9; **Me-Mza:** clon “Mendocino”, **Cm-Mza:** clon “Compacto”, **Cd-Mza:** clon “Cordobés”, **Cr-Mza:** clon “Criollo”, **Cr-BA:** clon “Criollo”. (*) desarrollo de callos

(a) N° de explantos sobrevivientes/N° de explantos introducidos*100

(b) N° de meristemas sobrevivientes/N° total de meristemas recuperados*100

Los clones restantes mostraron porcentajes de supervivencia de meristemas que oscilaron entre el 25% y el 100%. La totalidad de los meristemas pertenecientes a los clones C₁-FCA, C₃-FCA, C₉-FCA y C₉-FCA desarrollaron plántulas, que posteriormente fueron multiplicadas *in vitro*; este grupo se diferenció significativamente del clon Cd-Mza (con 75% de supervivencia de meristemas) y de los clones Cr-SJ, Cr-Mza, Cm-Mza, Me-Mza, Ne-SJ y C₂-FCA que, con porcentajes de meristemas vivos

que oscilaron entre 47,1 y 66,7%, conforman un segundo grupo. Finalmente, de los meristemas recuperados del clon Cm-SJ solo el 25% desarrolló plántulas.

MICROPROPAGACIÓN Y CRECIMIENTO *IN VITRO*

De los 12 clones que pasaron a la etapa de micropropagación, los explantos obtenidos de los clones Cr-SJ, Cm-SJ y C₉-FCA se perdieron por oxidación al cabo de la primera multiplicación. En general los seis clones que se perdieron durante el cultivo de meristemas y la primera multiplicación *in vitro* son aquellos que mostraron bajos porcentajes de prendimiento de explantos durante la etapa de introducción al cultivo *in vitro* (5,2 – 10,7%). Una excepción la constituyen los clones Ne-SJ y C₁-FCA que, si bien tuvieron porcentajes de prendimiento inferiores al 10%, durante el establecimiento del cultivo *in vitro*, mostraron porcentajes de supervivencia de meristemas superiores al 65%, logrando con éxito la multiplicación de ambos clones saneados.

Las diferencias observadas entre los distintos clones evaluados, en cuanto a la supervivencia de brotes y meristemas, evidencian la importancia del genotipo en la respuesta al cultivo *in vitro* (Vences Contreras *et al.*, 2009).

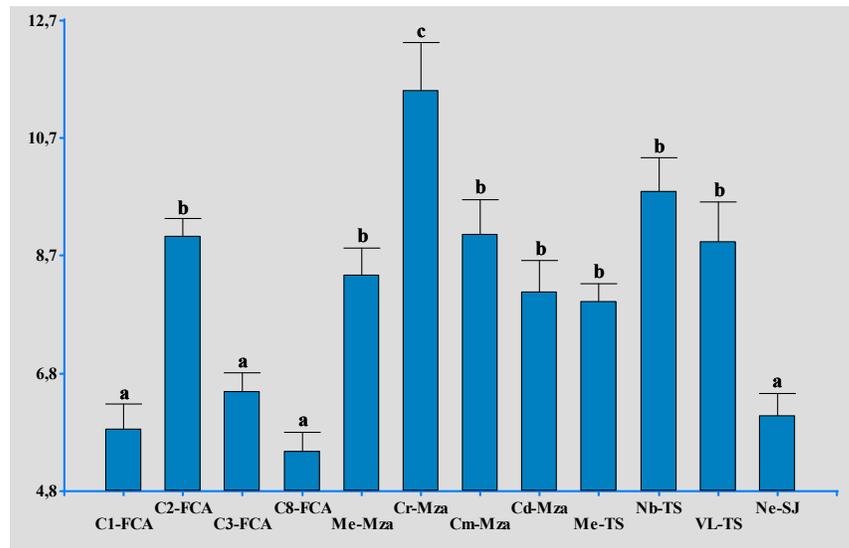
Del total de clones de orégano recolectados durante el año 2007 se logró la introducción *in vitro*, saneamiento y multiplicación de nueve de ellos: C₁-FCA, C₂-FCA, C₃-FCA, C₈-FCA, Ne-SJ, Me-Mza, Cr-Mza, Cd-Mza, Cm-Mza, completando la colección los genotipos NB-TS, Me-TS y VL-TS (materiales introducidos y saneados durante el 2006).

Para llevar a cabo la evaluación de la respuesta de los distintos clones al cultivo *in vitro* se tomaron 20 plántulas de cada uno de ellos. Dado que no todos los explantos se desarrollan con la misma tasa de crecimiento, todas las plántulas medidas se obtuvieron por multiplicación de ápices con el objetivo de unificar el desarrollo y el crecimiento de las mismas.

El análisis de la varianza mostró que existen diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los 12 clones de orégano estudiados para la mayoría de las variables analizadas. En cuanto a la presencia de raíces, el 93.7% de las plántulas medidas mostraron buen desarrollo radicular, constatándose la emisión de raíces en plántulas pertenecientes a

todos los clones. Con respecto a las de ramificaciones, las mismas se observaron en plántulas pertenecientes a todos los clones, siendo más abundantes en el clon C₃-FCA. La presencia de raíces y de ramificaciones se manifiesta en todos los clones, por lo que estos caracteres no permiten establecer diferencias entre los mismos; en otras palabras, estas variables carecen de valor discriminante.

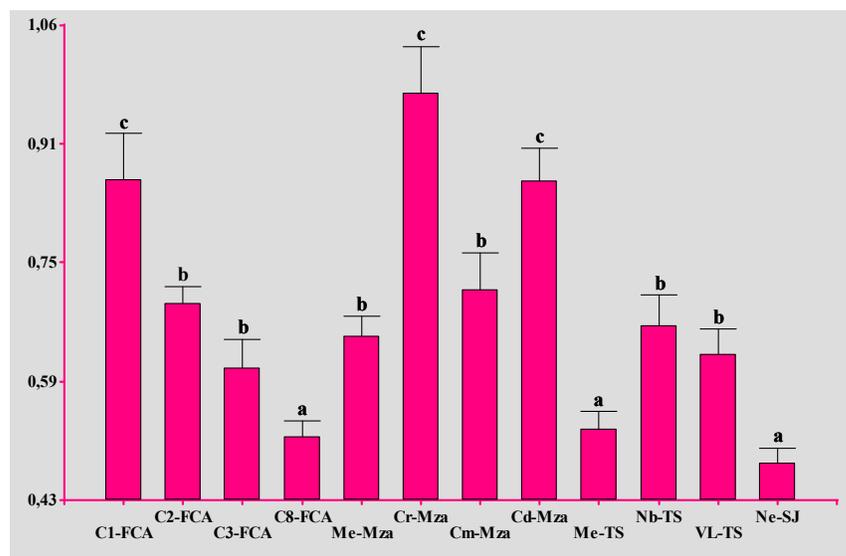
Con respecto a la longitud de plántulas, se pudo distinguir un primer grupo conformado por las plántulas de menor longitud, perteneciente a los clones C₈-FCA, C₁-FCA, Ne-SJ y C₃-FCA (longitud de plántula promedio de 5,94 cm); un segundo grupo constituido por los clones Me-TS, Cd-Mza, Me-Mza, VL-TS, C₂-FCA, Cm-Mza y NB-TS (longitud promedio de 8,77 cm), mientras que el clon Cr-Mza (con una longitud promedio de 11.49 cm) fue el que mostró el mayor valor para esta variable (Figura 2.6). Los clones Me-TS y Me-Mza, ambos denominados comúnmente como oréganos “Mendocinos” y provenientes de distintos sitios de recolección, no difieren en cuanto a la longitud de plántula.



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”

Figura 2.6 – Longitud de plántulas promedio de 12 clones de orégano provenientes de las principales zonas de producción del país, mantenidos en condiciones de cultivo *in vitro*

En cuanto a la longitud de entrenudos, se diferenciaron tres grupos significativamente distintos entre ellos (Figura 2.7). Las plántulas pertenecientes a los clones Ne-SJ, C₈-FCA y Me-TS constituyen el grupo con menores registros para la variable, con un valor promedio de 0,51 cm; el grupo integrado por los clones C₃-FCA, VL-TS, Me-Mza, NB-TS, C₂-FCA y Cm-Mza mostró una longitud de entrenudo promedio de 0,66 cm; el grupo con mayores valores (0,90 cm) involucra a los Cd-Mza, C₁-FCA y Cr-Mza. Los clones Me-TS y Me-Mza se diferenciaron significativamente para la variable, siendo el clon Me-Mza el que exhibió entrenudos más largos.



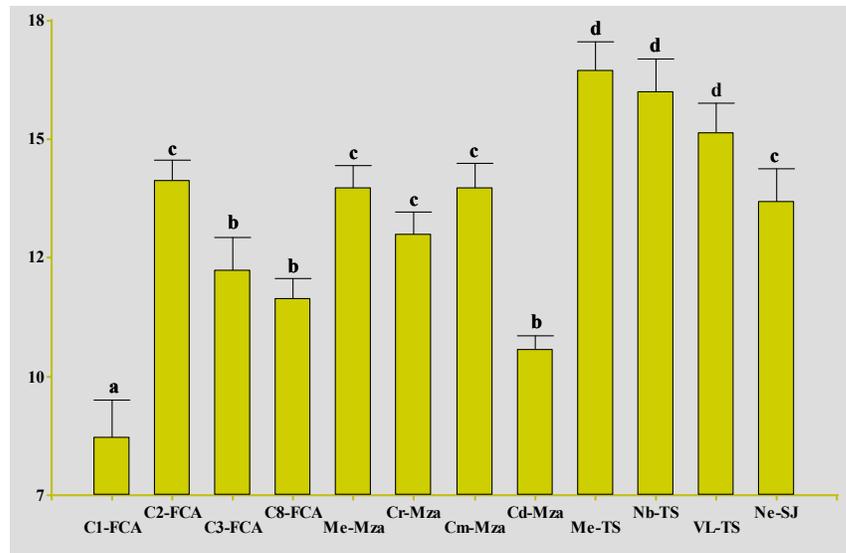
C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", Nb-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"

Figura 2.7 – Longitud de entrenudos promedio de 12 clones de orégano provenientes de las principales zonas de producción del país, mantenidos en condiciones de cultivo *in vitro*

En general, la mayoría de los clones evaluados mostraron valores de longitud de plántula y de entrenudos similares a los reportados por Goleniowski *et al.* (2003) y Morone-Fortunato y Avato (2008). Dado que la respuesta de un explanto a las condiciones de cultivo no sólo depende de la edad del mismo, sino también de su tamaño (Abreu *et al.*, 2003), tanto la longitud de plántula como la longitud de entrenudos son características importantes a tener en cuenta al momento de planificar la multiplicación comercial de la especie mediante el cultivo *in vitro* de esquejes nodales.

Las plántulas más de mayor longitud poseen un mayor número de yemas axilares para la formación de nuevos brotes (Makunga y van Staden, 2008); además las plántulas con entrenudos más largos son más fáciles de manejar durante la fase de multiplicación (Abreu et al., 2003).

También se observaron diferencias significativas entre los clones evaluados en cuanto al número de microestacas obtenidas (Figura 2.8), siendo el clon C₁-FCA los menores valores (menos de 10 microestacas por plántula). Si bien los 11 clones restantes producen más de 10 microestacas por plántula, también se observaron diferencias significativas entre ellos. Los clones Cd-Mza, C₈-FCA y C₃-FCA originaron en promedio 11 microestacas por plántula; a partir de los clones Cr-Mza, Ne-SJ, Me-Mza, Cm-Mza y C₂-FCA se obtuvieron en promedio 14 microestacas y los clones VL-TS, NB-TS y Me-TS produjeron en promedio 16 microestacas por plántula.



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", NB-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"

Figura 2.8 – Número de microestacas promedio obtenidas a partir de plántulas de orégano pertenecientes a 12 clones de distinta procedencia

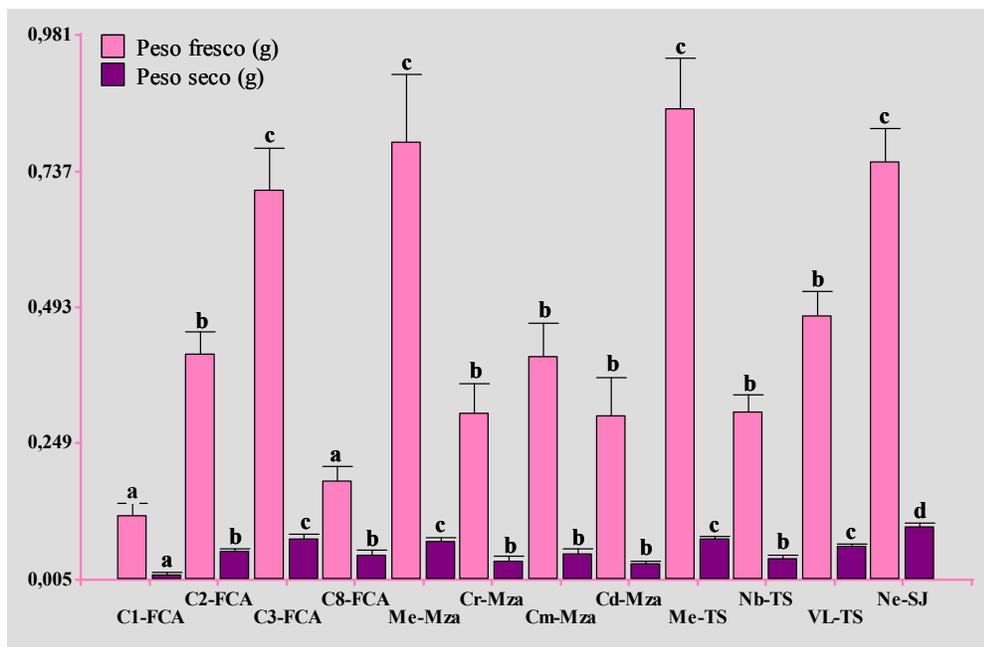
En los 12 clones de orégano evaluados el número de microestacas observado fue mayor que el reportado por Morone-Fortunato y Avato (2008), quienes reportaron un

promedio de 7 microestacas por plántula. El número de microestacas es otra característica importante a considerar cuando se planea llevar a cabo la micropropagación *in vitro*, ya que cuanto mayor sea el número de microestacas obtenidos, mayor será el número de plántulas que pueden ser regenerados (Paula Bima, com. pers.).

En cuanto al peso fresco por plántula (Figura 2.9), los clones evaluados pueden agruparse de la siguiente manera: el primer grupo incluye los clones Me-TS, Me-Mza, Ne-SJ y C₃-FCA que mostraron mayor producción de biomasa fresca (en promedio 0,774 g.plántula⁻¹); el segundo grupo está formado por VL-TS, C₂-FCA, Cm-Mza, NB-TS, Cr-Mza y Cd-Mza con un peso fresco promedio de 0,368 g.plántula⁻¹; finalmente los clones C₁-FCA y C₈-FCA constituyen el grupo de menor peso fresco (en promedio 0,151 g.plántula⁻¹).

En relación al peso seco por plántula, también se observaron diferencias significativas entre los distintos clones (Figura 2.9). El clon C₁-FCA fue el que mostró el menor valor para esta variable, con 0,015 g.plántula⁻¹; los clones Cd-Mza, Cr-Mza, NB-TS, C₈-FCA, Cm-Mza y C₂-FCA tuvieron un peso seco promedio de 0,047 g.plántula⁻¹; para el grupo conformado por los clones VL-TS, Me-Mza, Me-TS y C₃-FCA el peso seco promedio fue de 0,074 g.plántula⁻¹, mientras que el clon con mayor rendimiento en biomasa seca fue Ne-SJ, con 0,099 g.plántula⁻¹.

La única información disponible referida a las variables peso fresco y peso seco en orégano mantenido en cultivo *in vitro* corresponde a los reportes de El-Gengaihi *et al.* (2006), quienes evaluaron estas variables en cultivos de callos. Por lo que estos resultados presentados en esta Tesis constituyen el primer reporte para estas variables medidas en plántulas de orégano cultivadas *in vitro*

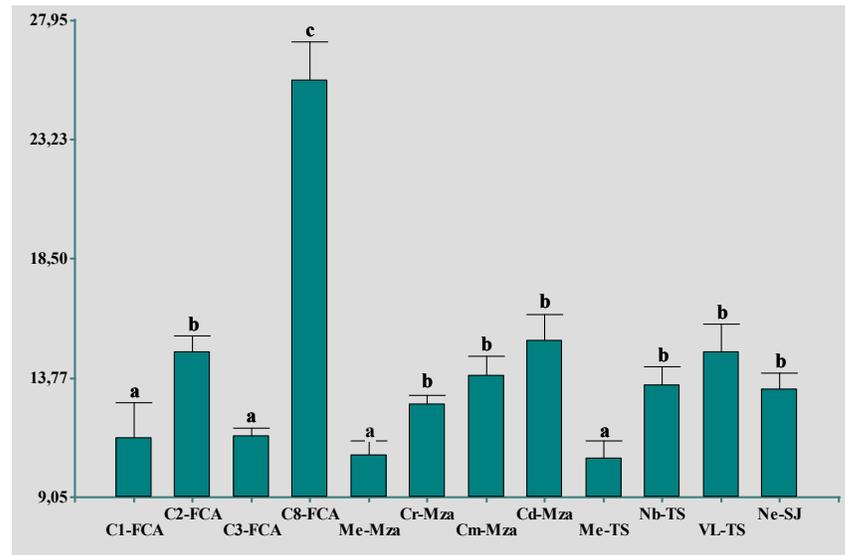


C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", Nb-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"

Figura 2.9 – Valores medios para las variables peso fresco y peso seco medido en plántulas de orégano pertenecientes a 12 clones procedentes de distintas regiones del país

En cuanto al contenido de agua (%), se observó que éste representa en promedio el 85.47% del peso fresco de las plántulas (que se pierde durante el proceso de secado). Los clones se diferenciaron significativamente en cuanto al contenido de agua, siendo C₈-FCA el clon con menor contenido agua (74,42%) y, en consecuencia, la mayor relación peso seco/peso fresco (Figura 2.10), lo que indican que contienen una mayor proporción de fibra o materia seca (25,58%). Los clones C₃-FCA, C₁-FCA, Me-Mza y Me-TS, con un contenido de agua promedio de 85,95%, fueron los que mostraron el menor contenido de fibra (14,05%) (Figura 2.10). En general, el contenido de fibra o materia seca observado en los clones de orégano evaluados es en promedio 85% superior a los valores reportados por El-Gengaihi *et al.* (2006), quienes evaluaron esta característica en cultivos de callos *in vitro*. No se encontraron antecedentes sobre las variables contenido de agua y contenido de fibra medidos en plántulas, ni en orégano ni en ninguna otra especie aromática por lo que los resultados obtenidos constituyen el primer reporte.

Tanto el contenido de agua como de fibra son variables importantes a la hora de determinar el germoplasma que se va a multiplicar ya que, a igual rendimiento en peso fresco, aquellos clones con menor porcentaje de agua y mayor contenido de fibra permitirán obtener mayor rendimiento en biomasa seca.



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", NB-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"

Figura 2.10 – Contenido promedio de fibra (%) estimado en plántulas de orégano pertenecientes a 12 clones de distinta procedencia

Los resultados obtenidos muestran que, si bien la mayoría de los clones de orégano incluidos en este trabajo respondieron exitosamente al cultivo de meristemas y a la multiplicación *in vitro*, su comportamiento bajo las condiciones de cultivo *in vitro* ensayadas fue diferencial. Esto pone evidencia la existencia de diferencias genotípicas entre los materiales evaluados. Por esta razón resulta necesario ajustar los protocolos de cultivo *in vitro* para cada una de las introducciones, con el fin de maximizar los porcentajes de prendimiento y supervivencia de los explantos en las distintas etapas del proceso y maximizar la eficiencia de la multiplicación a escala comercial.

Finalmente, es importante destacar que todos los cultivos derivados de las plantas de orégano saneadas se desarrollaron bajo excelentes condiciones sanitarias; tampoco se observó la ocurrencia de vitrificación o hiperhidricidad [malformaciones

fisiológicas que afectan a las plantas regeneradas mediante cultivo *in vitro* de tejidos (Azizi, 2010)] en ninguna de las etapas de cultivo.

COLECCIÓN DE GERMOPLASMA DE ORÉGANO *IN VITRO*

El mantenimiento de germoplasma *in vitro* resulta una herramienta útil para la conservación especies que producen semillas recalcitrantes o que no producen semillas (Theidale *et al.*, 2007), o de determinados genotipos derivados de la reproducción sexual (Baričević *et al.*, 2002). Las limitaciones que presenta la multiplicación sexual del orégano hacen que el cultivo de tejidos vegetales se presente como una alternativa válida para la conservación de germoplasma de orégano. Ya que es posible mantener gran número de accesiones en poco espacio físico, protegido de la acción de agentes climáticos y libres de enfermedades y plagas (Iriondo Alegría, 2001; Silva *et al.*, 2001) y obtener a la vez individuos genéticamente homogéneos (Baričević *et al.*, 2002; Concepción *et al.*, 2005).

A partir de los clones de orégano recolectados a campo, saneados y multiplicados *in vitro*, se logró establecer una colección de germoplasma de orégano, que se conserva en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (LBV-FCA) de la Universidad Nacional de Córdoba. Dicha colección es mantenida en cámara de cría bajo condiciones ambientales controladas y, a partir de la misma, se llevan a cabo repiques periódicos de los distintos clones (cada 30 días) en medio de cultivo fresco, con el fin de evitar la pérdida de materiales por agotamiento de nutrientes. Aún cuando se logró establecer la colección de germoplasma de orégano *in vitro*, las condiciones ambientales provistas por la cámara de cría permiten conservar los materiales a corto plazo. Es necesario ajustar las condiciones ambientales de la cámara de cría, particularmente temperatura y humedad (Lata *et al.*, 2010), con el fin de reducir el crecimiento de las plantas e incrementar los intervalos de subcultivo (Theidale *et al.*, 2007) y asegurar de este modo la conservación a mediano plazo de los distintos clones que integran la colección.

En cuanto a la conservación a largo plazo, el mantenimiento de cultivos de tejidos durante un período prolongado resulta difícil, debido a que a causa de la incorporación de nuevas accesiones de germoplasma al cultivo *in vitro*, los cultivos

llegar a ser inmanejables (Tyagi y Prakash, 2004). Es por esto que varios autores proponen ajustar protocolos de criopreservación (Tyagi y Prakash, 2004; Gonzales *et al.*, 2006; Lata *et al.*, 2010) o utilizar técnicas de encapsulación-deshidratación y técnicas de vitrificación para la conservación a largo plazo (Tyagi y Prakash, 2004).

CONCLUSIONES

Se logró establecer con éxito el cultivo *in vitro* de los clones de orégano provenientes de las principales zonas de producción del país. Si bien algunos de los materiales resultaron recalcitrantes, se llevó a cabo el saneamiento y la micropropagación de la mayoría de los clones en estudio. De esta forma el protocolo de cultivo *in vitro* utilizado con los genotipos recolectados resulta satisfactorio.

La evaluación de la respuesta al cultivo *in vitro*, puso en evidencia diferencias significativas entre los distintos clones, confirmando que el orégano que se cultiva en el país es una mezcla de diferentes genotipos, razón por la cual es necesario ajustar las condiciones de cultivo para cada uno de ellos.

Se logró generar una colección de germoplasma de orégano *in vitro*, que permitirá: 1) preservar las distintas introducciones de orégano libre de contaminaciones, a corto y mediano plazo, aunque será preciso probar la sanidad de los materiales, particularmente respecto a la presencia de virus; 2) preservar genotipos con características de interés comercial para las diferentes zonas de producción y 3) llevar a cabo la producción comercial de material homogéneo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdelnour-Esquivel, A.; Bermúdez, L. C.; Alvarenga, S. y C. Rivera. 2006. Cultivo de meristemas, termo y quimioterapia en chayote (*Sechium edule* Jacq. Sw.) para la erradicación del virus del mosaico del chayote (ChMV). Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) No. 77.
- Abreu, I. N.; Azevedo, M. T. A.; Solferini, V. M. and P. Mazzafera. 2003. *In vitro* propagation and isozyme polymorphism of the medicinal plant *Hypericum brasiliense*. *Biologia Plantarum* 47 (4): 629-632.
- Afanador Pérez, A. M. 2005. Propagación *in vitro* a partir de meristemas de cinco variedades comerciales de *Dianthus caryophyllus* (clavel). Tesis de Grado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, pp 140.
- Alvarado Rodríguez, M.; Moreno García, A. y M. M. Martínez Pacheco. 2001. Obtención de semilla de ajo (*Allium sativum* L.) libre de patógenos. 5^o Jornadas de Investigación, Universidad Autónoma de Zacatecas, México. Trabajo: AP/UAGRO-02/002.
- Arikat, N. A.; Jawad, F. M.; Karam, N. S. and R. A. Shibli. 2004. Micropropagation and accumulation of essential oils in wild sage (*Salvia fruticosa* Mill.). *Scientia Horticulturae* 100: 193-202.
- Attard, E. 2002. Status of medicinal and aromatic plants in Malta. In: Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. D. Baricevic, J. Bernáth, L. Maggioni and E. Lipman, compilers First Meeting, 12–14 September 2002, Gozd Martuljek, Slovenia. Pp 85-87
- Azizi, A. 2010. Genetic, chemical and agro-morphological evaluation of the medicinal plant *Origanum vulgare* L. for marker assisted improvement of pharmaceutical quality. Ph. D. Thesis. Justus Liebig University Giessen, Institute of Crop Science and Plant Breeding I. Giessen.
- Baričevic, D.; Zupančič, A.; Železnik-Kušar, A. and J. Rode. 2002. Conservation of medicinal and aromatic plant genetic resources in Slovenia. In: Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. D. Baricevic, J. Bernáth, L. Maggioni and E. Lipman, compilers First Meeting, 12–14 September 2002, Gozd Martuljek, Slovenia. Pp 114-117
- Bima P.J., Torres L. E., Flamarique, M. C. y Cognigni W. 2004. Micropropagación de orégano “Negrito” (*Origanum sp.*). In: XXVII Congreso Argentino de la Asociación Argentina de Horticultura. Resúmenes. Merlo. San Luis.
- Bima, P.; Vargas, L. and M. Ojeda. 2006. *In vitro* propagation of peperina [*Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb.]. *Molecular Medicinal Chemistry* 11: 3-5.
- Bracamonte, M. A.; Bima, P.; Bongiovanni, G. and M. Goleniowski. 2006. Nutrition and micropropagation of *Origanum vulgare x applii*. *Molecular Medicinal Chemistry* 11: 6-7.
- Brunetti, P. C. 2008. Propagación *in vitro* de *Hedeoma multiflorum* Benth. Y composición de aceites esenciales. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina, pp 46.
- Bueno, M.; Di Sapio, O; Barolo, M.; Villalonga, M. E.; Busilacchi, H. and C. Severin. 2010. *In vitro* response of different *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae) explants. *Molecular Medicinal Chemistry* 21: 125-126.

- Cassells, A. C. and R. D. Long. 1982. The elimination of potatoe viruses X, Y, S, and M in meristems and explants cultures of potatoe in presence of virusole. *Potatoe Research* 25: 165-173.
- Castillo, J. A. and M. Jordan. 1997. *In vitro* regeneration of *Minthostachys andina* (Brett) Epling – a Bolivian native species with aromatic and medicinal properties. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 49: 157-160.
- Concepción, O.; Nápoles, L.; Pérez, A. T.; Hernández, M.; Peralta, N. y R. Trullillo. 2005. Efecto de tres antioxidantes en el cultivo *in vitro* de ápices de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Relación entre el origen del y el contenido de compuestos fenólicos*. *Cultivos Tropicales* 26 (1): 33-39
- Díaz, M. S.; Figueroa, A. C.; Palacio, L. and M. E. Goleniowski. 2010. *In vitro* *Hedeoma multiflorum* Benth propagation in response to different nutritional conditions. *Molecular Medicinal Chemistry* 21: 17-20.
- Di Fabio, A. 2005. El Cultivo y su efecto sobre la calidad en orégano. Publicado en internet, disponible en: www.caempa.com.ar. Activo agosto 2010
- Digonzelli, P. A.; Romero, E. R.; Scandalariis, J y J. Giardina. 2009. Comparación de la calidad de semilla de caña de azúcar en el segundo corte según el método de saneamiento. *Rev. Ind. y Agríc. de Tucumán* 86 (1): 1-8.
- Di Rienzo, J.; Guzmán, W.; y F. Casanoves. 2001. D.G.C., Test de Comparación de Medias. InfoStat Versión 1.1/Profesional. Grupo InfoStat. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Echeverrigaray, S.; Basso, R. and L. B. Andrade. 2005. Micropropagation of *Lavandula dentata* from axillary buds of field grown adult plants. *Biologia Plantarum* 49 (3): 439-442.
- El-Gengaihi, S.; Taha, H. S. and A. M. Kamel. 2006. *In vivo* and *in vitro* comparative studies of *Origanum* species. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 4 (3-4): 127-134.
- Fariás, G.; Brutti, O.; Grau, R.; Di Leo Lira, P.; Retta, D.; van Baren, C.; Vento, S. y A. L. Bandoni. 2010. Morphological, yielding and quality descriptors of four clones of *Origanum* sp (Lamiaceae) from Argentine Littoral Region Germplasm Bank. *Industrial Crops and Products* (en prensa), doi: 10.1016/j.incrop.2010.06.019.
- Faure, O.; Diemer, F.; Moja, S. and F. Jullien. 1998. Mannitol and thidiazuron improve *in vitro* shoot regeneration from spearmint and peppermint leaf disks. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 52: 209-212.
- Fortunato, I. M.; Avato, P. and C. Ruta. 2006. Glandular hairs and essential in micropropagated plants of *Origanum vulgare* L. In: Proc. 1st IC on Labiatae. *Acta Hort.*, ISHS. B. Ruffoni (Ed.), pp 723.
- Gil Villacís, D. M. 2005. Micropropagación de vitroplantas de camote (*Ipomoea batatas*) variedad Bush bock establecidas a partir de meristemas. Tesis para optar al título de Ingeniera Agrónoma en el grado académico de Licenciatura, Zamorano, Honduras, pp 38.
- Goleniowski M. E.; Flamarique M. C. y P. Bima. 2003. Micropropagation of Oregano (*Origanum vulgare x applii*) from meristem tips. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant* 39: (2): 125 – 128.
- Gonçalves, S.; Serra, H.; Nogueira, J. M. F.; Almeida, R. and L. Custódio. 2008. Headspace-SPME of *in vitro* shoot cultures and micropropagated plants of *Lavandula viridis*. *Biologia Plantarum* 52 (1): 133-136.

- González, M.L.; Mallón, R.; Reinoso, J. and J. Rodríguez-Oubiña. 2006. In vitro micropropagation and long-term conservation of the endangered moss *Splachnum ampullaceum*. *Biologia Plantarum* 50 (3): 339-345, 2006
- González-Benito, M. E. and C. Martín. 2010. *In vitro* preservation of spanish biodiversity. In *Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant*. <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-010-9333-4>
- Gupta, S. K.; Khanuja, S. P. S. and S. Kumar. 2001. *In vitro* propagation of *Lippia alba*. *Current Science* 81 (2): 206-210.
- Hernández, R.; Fontanella, Y, Noa, J. C.; Pichardo, T.; Igarza, Y; Cárdenas, H. y R. Manzo. 1997. Nueva alternativa para el saneamiento de virus en ajo. En: 50 temas sobre producción de ajo 3: 291-293.
- Infostat 2009. Infostat versión 2009. Grupo Infostat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Iriondo Alegría, J. M. 2001. Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas (Revisión). *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* 16 (1): 5-24.
- Kaçar, O.; Azkan, N. and N. Çöplü. 2009. Effects of different rooting media and indole butyric acid on rooting of stem cuttings in sage (*Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L.). *Journal of Food, Agriculture & Environment* 7 (3-4): 349-352.
- Kintzios, S.; Nikolaou A. and M. Skoula. 1999. Somatic embryogenesis and in vitro rosmarinic acid accumulation in *Salvia officinalis* and *S. fruticosa* leaf callus cultures. *Plant Cell Reports* 18: 462–466
- Kintzios, S. E. 2002. Part 7 – Biotechnology: The biotechnology of oregano (*Origanum* sp and *Lippia* sp). In: *Oregano: The genera Origanum and Lippia*. S. E. Kintzios (ed). Taylor & Francis, pp 236-242.
- Kintzios, S.; Makri, O.; Panagiotopoulos, E. and M. Scapeti. 2003. In vitro rosmarinic acid accumulation in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Biotechnology Letters* 25: 405–408
- Kintzios, S.; Kollias, H.; Straitouris, E. and O. Makri. 2004. Scale-up micropropagation of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) in an airlift bioreactor and accumulation of rosmarinic acid. *Biotechnology Letters* 26: 521–523
- Kitiki, A. 1997. Status of cultivation and use of oregano in Turkey. In: *Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano*. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 121-131.
- Koroch, A. R.; Juliani Jr, H. R.; Juliani, H. R. and V. S. Trippi. 1997. Micropropagation and acclimatization of *Hedeoma multiflorum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 48: 213-217.
- Lago Castro, L. 1991. Capítulo 19: Cultivo de tejidos para la producción de semilla básica de papa. En: *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones – Cali – CIAT*. Roca, W. M. (Ed). pp 447-468.
- Lata, H.; Moraes, R. M.; Bertoni, B. and A. M. S. Pereira. 2010. In vitro germplasm conservation of *Podophyllum peltatum* L. under slow growth conditions. In *Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant* 46:22–27
- Leadley, E. 1997. Conservation of *Origanum* sp in botanic gardens. In: *Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano*. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 24-25.

- Lenardis, A. E.; Gil, A. y C. Morvillo. 2006. Capítulo 4.3: Orégano. En: Cultivos Industriales. Editorial Facultad de Agronomía – UBA. Buenos Aires, Argentina, pp 509-544.
- Makunga, N. P. and J. van Staden. 2008. An efficient system for the production of clonal plantlets of the medicinally important aromatic plant: *Salvia Africana-lutea* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 92: 63-72.
- Martins Farias, R. 2002. Medicinal and aromatic plants in Portugal – a survey In: Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. D. Baricevic, J. Bernáth, L. Maggioni and E. Lipman, compilers First Meeting, 12–14 September 2002, Gozd Martuljek, Slovenia. Pp 106-108
- Mederos-Molina, S. 2004. *In vitro* callus induction and plants from stem and petiole explants of *Salvia canariensis* L. Plant Tissue Cult. 14(2): 167-172
- Misic, D.; Grubisic, D. and R. Konjevic. 2006. Micropropagation of *Salvia brachyodon* through nodal explants. Biología Plantarum 50 (3): 473-476.
- Misra, P. and H. C. Chaturvedi. 1984. Micripropagation of *Rosmarinus officinalis* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 3: 163-168.
- Morone Fortunato, I. and P. Avato. 2008. Plant development and synthesis of essential oils in micropropagated and mycorrhiza inoculated plants of *Origanum vulgare* L. ssp *hirtum* (Link) Iestwaart. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 93: 139-149.
- Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15: 473-497.
- Özkum, D. and R. Tipirdamaz. 2007. Effects of different nutrient media and explant types on *in vitro* shoot regeneration of medical species of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & Davis. In: Proc. III Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes, Acta Hort., ISHS. Sivritepe, H. Ö. and N. Sivritepe (Eds), pp 729.
- Panta, A. y A. Golmirzaie. 2008. Fascículo 4.2: Cultivo de Tejidos para la Eliminación de Patógenos con fines de Producción de Semilla de Papa. En: Producción de Tubérculos-Semillas de Papa, Manual de Capacitación, Centro Internacional de la Papa (CIP), pp 97.
- Radušienė, J. 2002. Conservation of medicinal and aromatic plants in Lithuania. In: Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. D. Baricevic, J. Bernáth, L. Maggioni and E. Lipman, compilers First Meeting, 12–14 September 2002, Gozd Martuljek, Slovenia. Pp 73-81
- Reyes Padilla, B. A. 2001. Uso de L-cisteína y ácido ascórbico para reducir la oxidación durante el establecimiento y la multiplicación *in vitro* de ápices meristemáticos de tres cultivares de plátano (*Musa* sp) bajo luz y oscuridad. Tesis de Licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano, El Zamorano, Honduras, pp 83.
- Rojas Pérez, M. A.; Montes Rivera, G.; Silva Vázquez, R. y B. Díaz Ramírez. 2008. Respuesta al balance hormonal en segmentos nodales de orégano (*Lippia balandieri* Schaver). 3ª Reunión Nacional sobre Orégano. Edición Especial N° 1, Saltillo, Coah, México.
- Sánchez Chiang, N. y V. M. Jiménez. 2010. Técnicas de conservación *in vitro* para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales. Agronomía Mesoamericana 21 (1): 193-205.

- Sepúlveda Asprilla, N. I.; Murillo, M. V. y M. A. Medina Rivas. 2008. Propagación *in vitro* de musáceas del Chocó a partir del cultivo de meristemas radiculares. *Investigación, Biodiversidad y Desarrollo* 27 (1): 96-99.
- Severin, C.; Bruzzese, D.; Di Sapio, O.; Gattuso, M. and S. Gattuso. 2006. Evaluation of the *in vitro* behavior of *Aloysia citriodora* Palau: histological and chemical study. *Molecular Medicinal Chemistry* 11: 19-20.
- Shilpa, K.; Selvakkumar, C.; Senthil, A. K. and B. S. Lakshmi. 2010. *In vitro* root culture of *Ocimum sanctum* L. and evaluation of its free radical scavenging activity. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 101: 105-109.
- Siddique, I. and M. Anis. 2007. Rapid micropropagation of *Ocimum basilicum* using shoot tip explants pre-cultured in thidiazuron supplemented liquid medium. *Biologia Plantarum* 51 (4): 787-790.
- Silva, J. J.; Espinosa, A.; Acosta, L.; González, O.; Licea, R. y S. Meneses. 2001. Resultados y perspectivas de la conservación *in vitro* de recursos fitogenéticos en la región oriental de Cuba. Cuadernos de Biodiversidad pp 4-7. Publicado en internet, activo agosto de 2010, disponible en: http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/1146/1/cuadbiod07_1.pdf
- Spada, P. and P. Perrino. 1997. Conservation of oregano species in national and international collection: an assessment. In: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 14-23.
- Svoboda, K. P.; Finch, R. P.; Cariou, E and S. G. Deans. 1995. Production of volatile oils in tissue culture of *Origanum vulgare* and *Tanacetum vulgare*. *Acta Horticulturae*, pp 390.
- Theilade, I.; Yanchuk, A y H. Søren. 2007. Capítulo 5 - Establecimiento y manejo de rodales de conservación ex situ. En: Conservación y manejo de los recursos genéticos forestales: Recursos genéticos forestales En plantaciones y bancos de germoplasma (ex situ). FAO, FLD, Bioversity International. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia. Pp 60
- Tisserat, B. and S. F. Vaughn. 2008. Growth, morphogenesis and essential oil production in *Mentha spicata* L. plantlets *in vitro*. *In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant* 44: 40-50.
- Tsuro, M.; Inoue, M. and H. Kameoka. 2001. Variation in essential oil components in regenerated lavender (*Lavandula vera* DC) plants. *Sciencia Horticulturae* 88: 309-317.
- Torroba, M.C.; Bravo S. L.; Aguilera L. G. y H. Paccapelo. 2005. Establecimiento y regeneración *in vitro* de plantas de *Origanum x majoricum* Cambess (orégano). VI Simposio de Biotecnología, I Congreso Internacional de Biotecnología – Grupo Bio, I Encuentro Trinacional REDBIO Chile/Argentina/Uruguay, pp 159-160
- Tyagi, R.K. and S. Prakash. 2004 Genotype- and sex-specific protocols for *in vitro* micropropagation and medium-term conservation of jojoba. *Biologia Plantarum* 48 (1): 19-23
- Vences Contreras, C.; Vázquez García, L. M. y O. A. Hernández Rodríguez. 2009. Regeneración *in vitro* de once cultivares de crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) a partir de meristemas apicales. *Agronomía Mesoamericana* 20 (2):409-415.

CAPÍTULO 3

EVALUACIÓN A CAMPO DE DOCE CLONES DE ORÉGANO

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha manifestado a nivel mundial un incremento de la actividad comercial en el sector de las plantas aromáticas, medicinales y condimenticias (Palacio García-Nieto, 2000; Flórez Acosta, 2009), debido principalmente a la creciente demanda de productos naturales en lugar de productos sintéticos por los consumidores (Cases Capdevila, 2007; de Lope Nuevo, 2007; Flórez Acosta, 2009).

El cultivo y la utilización de las plantas aromáticas, medicinales y condimenticias proporcionan importantes beneficios tanto económicos y sociales como ambientales (Palacio García-Nieto, 2000). Desde el punto de vista económico y social, representan una posibilidad para el desarrollo de áreas marginales para los cultivos convencionales (Palacio García-Nieto, 2000; Soldevila *et al.*, 2006) y al mismo tiempo, las características morfológicas de este tipo de plantas (particularmente de sus sistemas radicales) permiten evitar la degradación y erosión del suelo. Más aún, en aquellos suelos que por su naturaleza o por una agricultura abusiva resultan inadecuados para otros cultivos, pueden cultivarse con éxito algunas de estas especies, promoviendo de este modo la recuperación de los terrenos (Palacio García-Nieto, 2000).

En América Latina, el cultivo de plantas aromáticas, medicinales y condimenticias representa un rubro de la actividad agrícola poco explotado, que constituye una alternativa válida para acceder a nuevos mercados con productos diferenciados (Amorin, 1988; Verlet, 1996; Di Fabio, 2000).

Entre las especies aromáticas cultivadas en Argentina, el orégano (*Origanum* sp.) se destaca como una de las más importante tanto desde el punto de vista de la demanda como de la superficie cultivada (80%) (Di Fabio, 2000). Las principales zonas de producción del orégano se encuentran en las provincias de Mendoza (859 ha cultivadas) (IDR, 2009), Córdoba (300 ha cultivadas) (La Voz, Suplemento Campo,

2009) y San Juan (119 ha cultivadas) (Figura 3.1). Existen además otras áreas productoras localizadas en las provincias de San Luis, Salta, Jujuy, Misiones, La Pampa, Río Negro (Alderete y Janín, 2000), Neuquén y Buenos Aires, que aportan 119 ha a la producción total (Alejandro García - CAEMPA, 2008, comunicación personal).

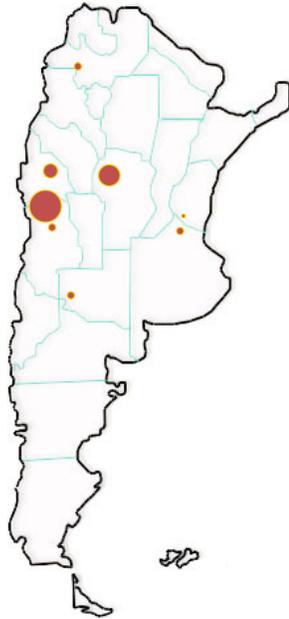


Figura 3.1 – Principales zonas de producción de orégano del país. Adaptado de Potaschner y Bauzá (2009)

El orégano se cultiva principalmente para la obtención de hojas y sumidades floríferas que son empleadas como condimento (Rouquaud y Videla, 2000; Xifreda 1983), destinándose al consumo minorista e industrial, aunque en los últimos años la producción nacional de orégano dejó márgenes crecientes de producción destinados a la exportación (Alejandro García - CAEMPA, 2008, comunicación personal). Sin embargo, el cultivo de orégano en Argentina aún se ve afectado por diferentes problemáticas. En primer lugar, el orégano producido en el país no presenta generalmente las mejores cualidades para ser considerado producto de primera calidad para la alimentación, ya que se cultiva sin tener en cuenta la variedad, la sanidad o las prácticas de cosecha y poscosecha que permitan conservar un producto con características organolépticas adecuadas (composición de los aceites esenciales, olor, color) y libre de contaminaciones. A esto se suma el hecho de que existe una escasa identificación taxonómica y evaluación agronómica de los materiales vegetales en

cultivo (Ojeda *et al.*, 2004), lo que no permite realizar en la actualidad una tipificación de la producción por variedad comercial.

Actualmente, no existen en el país cultivares y/o variedades de orégano inscritas en el Instituto Nacional de Semillas (INASE). Los nombres comunes con los que se designa a los distintos materiales en cultivo son denominaciones locales, asignadas por los productores, que destacan características fenotípicas del material en cultivo o el lugar de procedencia (por ejemplo: Hoja Grande, Hoja Chica, Flor Blanca, Mendocino, Cordobés, etc.) (Suárez, 2002).

En cuanto a la evaluación agronómica del orégano, se han llevado a cabo ensayos tendientes a evaluar el desempeño agronómico de distintos genotipos o clones en cultivo (Suárez, 2002) y el efecto de la fertilización nitrogenada sobre los rendimientos tanto en biomasa como en aceites esenciales (Barreyro *et al.*, 2005; Suárez y Ojeda, 2007). En el año 2006, el Foro del Orégano Argentino dio inicio a una red nacional de ensayos con el fin de evaluar el comportamiento agronómico de cuatro clones de orégano denominados “Mendocino”, “Compacto”, “Cordobés” y “Criollo”. Es así que, en el marco del Proyecto Específico INTA: Bases para el mejoramiento de la producción y la calidad del orégano de consumo interno y exportación (PNHFA4161) - Proyecto Integrado INTA (PNHFA4): Desarrollo de tecnologías innovadoras para la diversificación, intensificación y diferenciación de la producción de aromáticas (2006), se establecieron 14 ensayos distribuidos en las provincias de Salta, Tucumán, San Juan, Córdoba, Entre Ríos, Mendoza, La Pampa, Buenos Aires, Río Negro y Chubut (Potaschner y Bauzá, 2009). Además de evaluar el desempeño agronómico de los materiales (Baglio *et al.*, 2009a; Farías y Brutti, 2009; Torres *et al.*, 2009a y b; Orell y Martínez, 2010), se abordó el estudio de distintos tipos de riego (Lipinski *et al.*, 2009; Lipinski *et al.*, 2010), distintos métodos de secado y almacenamiento (Moreno *et al.*, 2009; Baglio *et al.*, 2009b; Moreno *et al.*, 2010; Mariconda *et al.*, 2010; Mirábile *et al.*, 2010) y la caracterización de los aceites esenciales (rendimiento y composición) (Ré *et al.*, 2009; González *et al.*, 2010; Torres *et al.*, 2010). Como complemento a estas investigaciones, Farías *et al.* (2010) generaron un listado de 41 descriptores de orégano, con el objetivo de facilitar la identificación, y caracterización de los distintos clones, y su tipificación en función de sus características productivas.

La adecuada caracterización de los genotipos de orégano, desde el punto de vista de su comportamiento agronómico, identificación morfológica, fenológica y botánica y el estudio de sus aceites esenciales, permitirá conocer el material presente en Argentina y planificar, a partir de esta información, el desarrollo organizado y competitivo de esta especie aromática de gran valor comercial. Además, considerando que la diversidad de ambientes a los que se somete el cultivo de orégano se plantea como un potencial generador de cambios, afectando particularmente al contenido y a la composición de los aceites esenciales, estos cambios pueden ser aprovechados para identificar el tipo de aceite según la región como parte de la tipificación.

En función de lo expuesto se plantean los siguientes objetivos específicos:

1) Evaluar comparativamente los distintos genotipos en tres localidades diferentes: Capilla de los Remedios (Córdoba), Potrero de Garay (Córdoba) y La Consulta (Mendoza).

2) Caracterizar genotipos de orégano representativos de las principales zonas de producción del país a través de variables de importancia agronómica.

3) Establecer los caracteres con valor discriminante entre los genotipos de orégano evaluados y las interacciones genotipo x ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN DE PLANTAS

Previo a la siembra de los ensayos a campo, y con la finalidad de obtener el número de plantas necesario para la realización de los mismos, se llevó a cabo el transplante de las plántulas de orégano (saneadas y multiplicadas *in vitro*) a maceta. En una primera instancia las mismas fueron mantenidas en cámara de cría a 22°C de temperatura y fotoperíodo de 16 hs de luz (Figura 3.2).

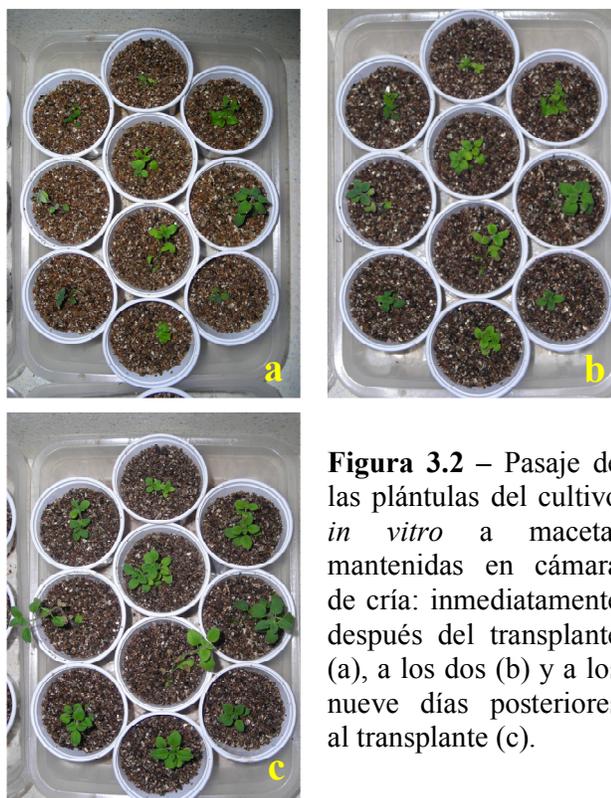


Figura 3.2 – Pasaje de las plántulas del cultivo *in vitro* a maceta, mantenidas en cámara de cría: inmediatamente después del transplante (a), a los dos (b) y a los nueve días posteriores al transplante (c).

Al cabo de cuatro semanas de crecimiento en cámara de cría, las plantas fueron trasladadas a invernadero para su aclimatación (Figura 3.3), siempre bajo condiciones ambientales controladas. En todos los casos, el sustrato utilizado fue vermiculita, previamente humedecida con una solución fertilizante y una solución fungicida.

Una vez aclimatadas, las plantas de los distintos clones se utilizaron como madres de aquéllas que finalmente fueron transplantadas a campo en cada uno de los ensayos. La multiplicación se llevó cabo en bandejas almacigueras o *speedlings*, de 72 cavidades o celdas cada una, utilizando el mismo sustrato descrito anteriormente. En cada celda se colocó un esqueje binodal de modo tal de garantizar el prendimiento de los mismos (Figura 3.4). Durante la multiplicación de las plántulas en invernadero no se registraron inconvenientes, los 12 clones se adaptaron exitosamente a las condiciones ambientales *ex vitro* y se logró cubrir el número de plantas necesarias para realizar los tres ensayos planificados, quedando un remanente para salvaguardar posibles pérdidas.



Figura 3.3 – Plántulas trasladadas a invernadero luego de cuatro semanas permanencia en cámara de cría (a). Mantenición bajo condiciones ambientales controladas (b, c, d y e).



Figura 3.4 – Multiplicación: a partir de plantas madre saneadas (a); esquejes binodales (b y c), plantas aptas para su trasplante a campo provenientes de esquejes binodales (d).

ENSAYOS A CAMPO

Se planificaron tres ensayos a campo tendientes a evaluar el comportamiento de los distintos genotipos de orégano. Los mismos se implantaron en tres localidades, cuya ubicación geográfica y características climáticas se detallan en la tabla 3.1. El primer ensayo se implantó en la Estación Experimental Agropecuaria La Consulta INTA (Departamento San Carlos, Mendoza) el 22 de octubre de 2008, el segundo se implantó en el campo de un productor ubicado en Potrero de Garay (Departamento Santa María, Córdoba) el 31 de octubre de 2008 y el tercer ensayo se implantó en el Campo Escuela de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba (Camino a Capilla de los Remedios, Córdoba) el 6 de noviembre de 2008.

Tabla 3.1 – Ubicación geográfica y altitud de las tres localidades en las cuales se implantaron los ensayos comparativos de orégano

Localidad	Latitud (S)	Longitud (O)	Altitud (msnm)	TmE (°C)	TmJ (°C)	PMA (mm)
LC-Mza	33° 29' 23.70``	69° 04' 23.60``	954	21.8	6.2	212.5
PG-Cba	31° 47' 42.96``	64° 33' 19.38``	810	21.3	9.9	723.3
CE-Cba	31° 29' 00.13``	64° 00' 23.50``	370	22.8	9.7	606.5

msnm: metros sobre el nivel del mar; **TmE:** temperatura media del mes enero; **TmJ:** temperatura media del mes de julio; **PMA:** precipitación media anual. **LC-Mza:** La Consulta (Mendoza); **PG-Cba:** Potrero de Garay (Córdoba); **CE-Cba:** Campo Escuela FCA-UNC (Córdoba).

Previo a la implantación de los ensayos, con el fin de caracterizar el suelo de los distintos lotes, se recolectaron muestras de suelo compuestas (0.20 m de profundidad) en cada una de las localidades de cultivo; las mismas fueron analizadas en el Laboratorio de Suelos de la Secretaría de Ambiente de la Provincia de Córdoba, donde se realizaron las siguientes determinaciones:

- pH: por potenciometría en extracto 1:2,5 (suelo/agua):(suelo/cloruro de potasio)
- % Materia Orgánica: %C x 1,724
- % Carbono: método Walkley-Black (dicromato sin fuente externa de calor)
- % Nitrógeno Total: por método de Kjeldahl semimicro
- Relación Carbono/Nitrógeno: obtenida a través del cociente adimensional entre % Carbono y % Nitrógeno

- Conductividad Eléctrica: medida con electrodo en proporción 1:2,5 y/o en extracto de saturación

Los resultados de dichos análisis se detallan en la tabla 3.2:

Tabla 3.2 - Análisis químico de suelo de cada una de las tres localidades donde se implantaron los ensayos de orégano.

Localidad	MO	N	C	C/N	pH	CE
LC-Mza	1.12	7.42 10^{-3}	0.065	8.76	7.96	1.76
PG-Cba	10.5	0.6	6.1	9.9	8.0	0.28
CE-Cba	3.3	0.17	1.9	10.9	6.8	0.18

MO: Materia Orgánica (%); **C:** Carbono (%); **N:** Nitrógeno (%); **C/N:** relación carbono-nitrógeno, **CE:** Conductividad eléctrica ($dS\ m^{-1}$). **LC-Mza:** La Consulta (Mendoza); **PG-Cba:** Potrero de Garay (Córdoba); **CE-Cba:** Campo Escuela FCA-UNC (Córdoba).

Los tres ensayos se transplantaron siguiendo un diseño completamente aleatorizado; donde cada uno de los 12 clones estuvo representado por 10 plantas (constituyendo cada planta una repetición). Las plantas se distribuyeron en líneas o surcos distanciados a 0,70 m una de otra y con una distancia de 0,25 m entre plantas sobre la línea (Figura 3.5 a, b y c).

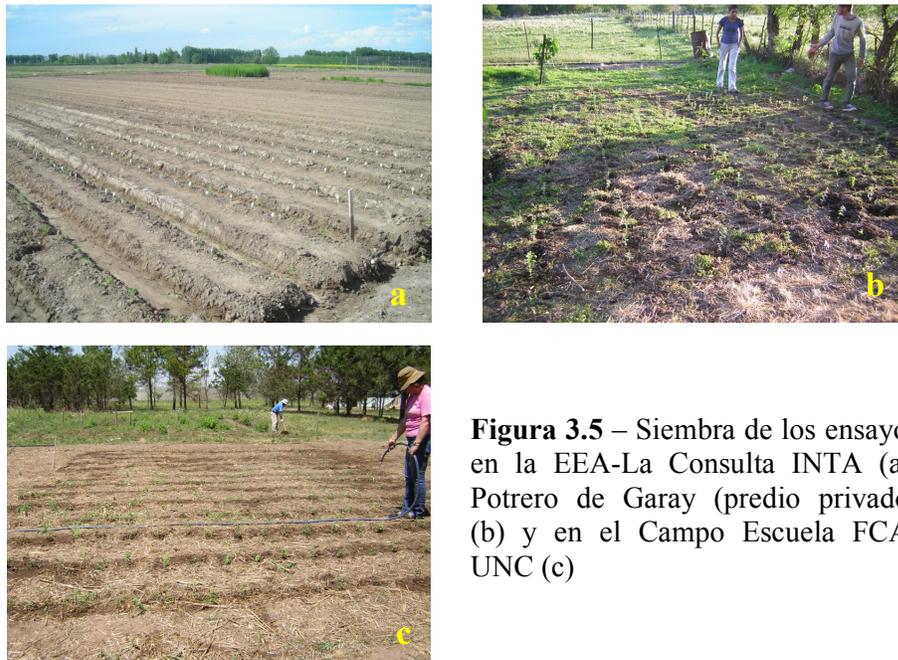


Figura 3.5 – Siembra de los ensayos en la EEA-La Consulta INTA (a), Potrero de Garay (predio privado) (b) y en el Campo Escuela FCA-UNC (c)

Sobre los ensayos se llevaron a cabo las labores culturales necesarias para su adecuado desarrollo (riegos, carpidas, desmalezado y aplicaciones de insecticidas y fungicidas) (Ojeda, *et al.* 2000 a y b).

La identificación y descripción de los distintos genotipos se llevó a cabo a través de parámetros morfológicos, fenológicos y de producción. La cosecha se realizó a una altura de 5 cm del suelo. En cada una de las localidades donde se realizaron los ensayos las plantas de cada clon fueron cosechadas individualmente y colocadas en bolsas de papel debidamente identificadas para su posterior procesamiento.

A los 85 días de la siembra (enero de 2009) se midieron las siguientes variables: longitud de la rama más larga (LRL), medida en cm desde el ras del suelo a la punta del ápice; porte de las plantas (erecto, semierecto o rastrero); estado fenológico al momento de la medición (vegetativo, con botones florales, en floración); color de las flores (blancas, rosadas y lilas); color de las brácteas (verde, verde-morado y morado) y tamaño de la inflorescencia (espiga) (corta, mediana y larga).

A los 140 días de cultivo (marzo de 2009) se realizó el primer corte, momento en el que se registraron las variables: rendimiento en peso fresco (PF) (g.planta^{-1}); rendimiento en peso seco (PS) (g.planta^{-1}); peso seco de hojas (PSH) (g.planta^{-1}); peso seco de tallos (PST) (g.planta^{-1}) y rendimiento en aceites esenciales (AE) (%) estimado como ml de aceite producido por cada 100 g de materia seca. Además se registró el estado fenológico de las plantas al momento de la cosecha (vegetativo, con botones florales, en floración) y se estimó la relación hoja/tallo (H/T) [cociente entre peso seco de las hojas (g planta^{-1})/ peso seco de los tallos (g planta^{-1})], el contenido de agua (Agua) (%) [diferencia entre el rendimiento en peso fresco y el rendimiento en peso seco*100] y el contenido de fibra (Fibra) (%) [cociente entre el rendimiento en peso seco y el rendimiento en peso fresco*100].

Para la determinación del peso seco se procedió al secado del material (plantas individuales mantenidas en bolsas debidamente identificadas), el mismo fue secado a la sombra (en una habitación calefaccionada y con buena circulación de aire); una vez medido el peso seco se procedió a despalillar manualmente el material (Figura 3.6) para la determinación del peso seco de hojas y tallos.



Figura 3.6 – Despalillado manual de los materiales, para posterior estimación de peso seco de hojas y tallos



Figura 3.7 – Equipo de destilación Clevenger modificado, con cámara de extracción separada (capacidad de la cámara: 5g)

Para la determinación de la concentración de los aceites esenciales, a partir de cada uno de los clones en estudio se tomaron tres muestras de hojas secas, de 5 g cada una. La extracción de los aceites se llevó a cabo durante 45 minutos, mediante arrastre con vapor de agua en un equipo Clevenger modificado, con cámara de extracción separada (Figura 3.7); posteriormente se estimó el contenido de aceites en ml por cada 100g de material seco.

A los 400 días de la siembra (diciembre de 2009) se llevó a cabo el segundo corte, momento en el que se midieron nuevamente las variables tomadas a los 85 días y se registraron las variables: longitud de entrenudos (LE) (cm) [cociente entre la longitud de la rama y el número de nudos]; el número de ramas por planta (Ramas); el color de los tallos; el color de las hojas; el color de los ápices foliares y la densidad de las inflorescencias.

Además se tomaron muestras de hojas para estimar los siguientes parámetros foliares: área foliar (AF) (cm²); ancho de la hoja (AH) (cm); largo de la hoja (LH) (cm) [tomada desde el ápice hasta la base del pecíolo] (Figura 3.8) y la relación ancho de hoja/largo de hoja (AH/LH). Para la determinación de estos parámetros se tomaron hojas completamente expandidas situadas en el tercio medio de cada rama, las mismas se pegaron sobre una hoja de papel contact transparente (Figura 3.8) y se escanearon;

para el procesamiento de las imágenes escaneadas se utilizó el programa ImageJ (ver. X.XX, NIH, USA)



Figura 3.8 – Imagen de las hojas escaneadas para la determinación de los parámetros foliares. La barra representa 1 cm.

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL MATERIAL VEGETAL

Para la identificación botánica de los materiales en estudio, se herborizó una rama de orégano de cada clon (en floración) y el material herborizado se depositó en el Herbario del Museo Botánico del Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV). Para la caracterización de cada clon, basada principalmente en caracteres florales, se utilizaron las claves de identificación disponibles (Ietswaart, 1980; Xifreda, 1983; Rouquaud y Videla, 2000).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los resultados obtenidos para cada una de las variables medidas se analizaron utilizando el programa INFOSTAT (Infostat, 2009).

Mediante un ANAVA se estimaron las diferencias entre los clones y las localidades de cultivo para cada una de las variables cuantitativas evaluadas de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + L_j + R_k + C * L_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

donde: Y_{ijk} representa el valor medio de cada variable del i -ésimo clon (C_i) evaluado en la j -ésima localidad (L_j), R_k es el número de repeticiones de cada clon por localidad,

$C*L_{ij}$ es la interacción entre el i -ésimo clon y la j -ésima localidad y ϵ_{ijk} con $\sim N(0, \sigma^2)$ es el término de error aleatorio asociado a la observación Y_{ijk} . Las diferencias entre los valores medios de cada clon y localidad se determinaron mediante el test a posteriori de comparación de medias DGC (Di Rienzo *et al.*, 2001).

Utilizando el Análisis de Componentes Principales (ACP) se evaluó la potencialidad de los caracteres medidos, tanto cuantitativos como cualitativos, para discriminar los distintos clones en cada uno de los ambientes de cultivo. Se realizó también un Análisis de Procrustes Generalizado (APG) con un doble propósito. Por un lado se hizo un APG con fin de determinar el grado de consenso entre las configuraciones obtenidas para caracteres cuantitativos y cualitativos, en cada una de las localidades donde se llevaron a cabo los ensayos; por otro el APG se utilizó para evaluar el consenso entre las configuraciones obtenidas (tanto para variables cuantitativas como cualitativas) en las distintas localidades.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ENSAYO EEA-LA CONSULTA INTA - MENDOZA (EO₁)

CARACTERES CUANTITATIVOS

A partir del análisis de la varianza se observaron diferencias significativas entre los clones para la mayoría de las variables cuantitativas medidas (Tablas 3.3, 3.4 y 3.5). En cuanto a la longitud de la rama más larga, medida a los 85 días de la siembra, los clones Me-TS, VL-TS y C₃-FCA difirieron significativamente del resto, por ser los de menor longitud (Tabla 3.3). Considerando la misma variable, medida a los 400 días de la siembra, el clon Me-TS continúa diferenciándose del resto de los clones por su menor longitud, junto con los clones Ne-SJ y Cd-Mza (Tabla 3.4).

Respecto al rendimiento en peso fresco de la primera cosecha, los clones C₈-FCA, C₃-FCA y Ne-SJ fueron los que se destacaron por su mayor producción de biomasa fresca, seguidos por los clones Cm-Mza y NB-TS. En relación al peso seco, nuevamente el clon C₈-FCA se diferencia significativamente del resto de los clones por su mayor rendimiento en biomasa seca, seguido por los clones C₃-FCA, C₂-FCA, Ne-SJ, Cm-Mza y NB-TS (Tabla 3.3). La producción de biomasa fresca y seca puede

relacionarse con la longitud de los entrenudos y el área foliar; los clones C₃-FCA, C₂-FCA, Ne-SJ, Cm-Mza y NB-TS mostraron también menor longitud de entrenudos y mayor área foliar (Tabla 3.4). En la segunda cosecha, los clones C₃-FCA y C₈-FCA superaron significativamente del resto de los materiales tanto en peso fresco como seco (Tabla 3.4). Tanto en la primera como en la segunda cosecha, los valores observados para las variables peso fresco y peso seco coinciden con las reportadas con otros autores (Droushiotis and Della, 2002; Weglarz and Geszprych, 2002).

En cuanto al porcentaje de agua que se pierde durante el proceso de secado, se observaron diferencias significativas entre los clones tanto en la primera como en la segunda cosecha. En la primera cosecha los clones que registraron el menor contenido de agua fueron Cr-Mza, C₂-FCA, Cd-Mza y C₁-FCA, los que a su vez mostraron el mayor porcentaje de fibras (66,47% y 34, 16% respectivamente). En la segunda cosecha, los clones con menor contenido de agua y mayor contenido de fibras fueron Cd-Mza, VL-TS y C₂-FCA, con un porcentaje promedio de 54,68% de agua y 45, 32% de fibra. El porcentaje de agua observado en la segunda cosecha es similar al reportado por Leto y Salamone (1997), quienes estudiaron 62 biotipos de orégano provenientes de 17 localidades diferentes.

Un mayor contenido de fibra (o menor pérdida de agua) equivale a un mayor rendimiento en materia seca. Es decir que, en promedio los clones con mayor contenido de fibra mostraron un rendimiento en materia seca un 7,62% superior que el resto de los clones en la primera cosecha y 15,85% superior al resto de los clones en la segunda cosecha, dato importante a la hora de estimar volúmenes de producción de materia seca.

También se observaron diferencias significativas entre los clones en cuanto al peso seco de las hojas y los tallos y a la relación hoja/tallo (Tabla 3.3), siendo esta última variable de gran importancia también a la hora de estimar rendimientos dado que son justamente las hojas las partes de la planta que se destinan al consumo (Franz and Novak, 1997). Los clones que mostraron los mayores valores para la relación hoja/tallo fueron Ne-SJ, Cm-Mza y NB-TS, clones de entrenudos cortos, mayor número de nudos (y en consecuencia de mayor follaje) y mayor área foliar (Tabla 3.5).

Tabla 3.3 – Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en La Consulta (San Carlos, Mendoza), en la primera cosecha.

Clon	LRL ₁ (cm)	PF ₁ (g pl ⁻¹)	PS ₁ (g pl ⁻¹)	Agua ₁ (%)	Fibra ₁ (%)	PSH ₁ (g pl ⁻¹)	PST ₁ (g pl ⁻¹)	H/T ₁
Me-TS	19,02a	60,61a	18,73a	69,15b	30,90a	14,34a	4,39a	3,31a
VL-TS	23,42a	52,80a	16,79a	68,41b	31,80a	11,32a	5,48a	2,02a
NB-TS	29,59b	73,72a	23,08a	68,17b	31,30a	17,75b	5,33a	4,07b
Ne-SJ	30,93b	87,31b	25,51a	70,38b	29,21a	20,65b	4,86a	5,29b
Me-Mza	28,56b	63,10a	19,07a	69,94b	30,22a	13,56a	5,51a	2,52a
Cm-Mza	30,02b	80,41a	22,94a	71,17b	28,53a	18,63b	4,30a	4,48b
Cd-Mza	32,86b	62,70a	21,08a	65,96a	33,62b	14,52a	6,56a	2,28a
Cr-Mza	34,49b	50,87a	17,94a	64,42a	35,27b	11,81a	6,13a	1,85a
C ₁ -FCA	38,86b	66,97a	22,39a	66,53a	33,43b	15,66a	6,73a	2,33a
C ₂ -FCA	37,72b	74,47a	25,56a	65,76a	34,32b	17,73b	7,83b	2,30a
C ₃ -FCA	23,04a	94,12b	28,58a	69,72b	30,37a	20,33b	8,25b	2,78a
C ₈ -FCA	35,99b	98,89b	31,50b	68,24b	31,85a	23,66b	7,84b	3,29a

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito” LRL 1: longitud de la rama más larga a los 85 días de la siembra; PF 1: Peso fresco; PS 1: Peso seco; Agua 1: contenido de agua; Fibra 1: contenido de fibra; PSH 1: peso seco de las hojas; PST 1: peso seco de los tallos; H/T 1: relación peso seco de hoja/peso seco de tallos. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Tabla 3.4 – Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en La Consulta (San Carlos, Mendoza), segunda cosecha.

Clon	LRL ₂ (cm)	LE (cm)	Ramas (N°)	PF ₂ (g pl ⁻¹)	PS ₂ (g pl ⁻¹)	Agua ₂ (%)	Fibra ₂ (%)	AE (%)
Me-TS	47,34a	2.27b	94a	272a	107,5 a	59,60b	40,40a	2.00d
VL-TS	54,86c	2.53c	112a	240a	106,0 a	54,43a	45,57b	0.72b
NB-TS	56,01c	2.16b	97a	282a	105,1 a	61,75b	38,25a	0.83b
Ne-SJ	46,04a	1.82a	101a	322a	108,5 a	65,91b	34,09a	0.35a
Me-Mza	52,56b	2.59c	96a	268a	101,0 a	60,63b	39,37a	2.36e
Cm-Mza	56,77c	2.17b	118a	314a	118,5 a	62,26b	37,74a	0.91b
Cd-Mza	46,33a	1.66a	109a	266a	110,0 a	53,36a	46,64b	1.42c
Cr-Mza	57,21c	2.13b	115a	353a	128,9 a	62,98b	37,02a	1.35c
C ₁ -FCA	57,28c	1.94b	123a	368a	131,0 a	63,89b	36,11a	1.42c
C ₂ -FCA	57,74c	2.04b	119a	334a	142,5 a	56,26a	43,74b	1.55c
C ₃ -FCA	51,68b	1.68a	102a	544b	191,1 b	64,67b	35,33a	0.50a
C ₈ -FCA	51,82b	1.75a	103a	544b	192,0 b	64,81b	35,20a	0.66b

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”; LRL 2: longitud de la rama más larga a los 400 días de la siembra; LE: longitud de entrenudos; Ramas: número de ramas planta⁻¹; PF 2: peso fresco segunda cosecha; PS 2: peso seco segunda cosecha; Agua 2: porcentaje de agua segunda cosecha; Fibra 2: porcentaje de fibra segunda cosecha. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Con respecto al rendimiento en aceites esenciales (Tabla 3.4), se pueden distinguir cuatro grupos. El primer grupo tuvo un rendimiento promedio de 2,18% e incluye a los clones Me-Mza y Me-TS; el segundo compuesto por los clones C2-FCA, C1-FCA, Cd-Mza y Cr-Mza, clones que tuvieron un rendimiento promedio de 1,44%; el tercer grupo mostró un rendimiento promedio en aceites del 0,78% e involucra a los clones Cm-Mza, NB-TS, VL-TS y C8-FCA; finalmente el grupo de menor rendimiento está constituido por los clones C3-FCA y Ne-SJ, que tuvieron un rendimiento promedio de 0,43%. Los rendimientos promedios observados en el primer y segundo grupo superan en 67,7 % y 10,8%, respectivamente, los rendimientos observados por Weglarz and Geszprych (2002), mientras que el tercer y cuarto grupo mostraron rendimientos en aceites comprendidos en el rango propuesto por estos autores (0,30-1,30%).

No se observaron diferencias entre los clones en cuanto al número de ramas por planta.

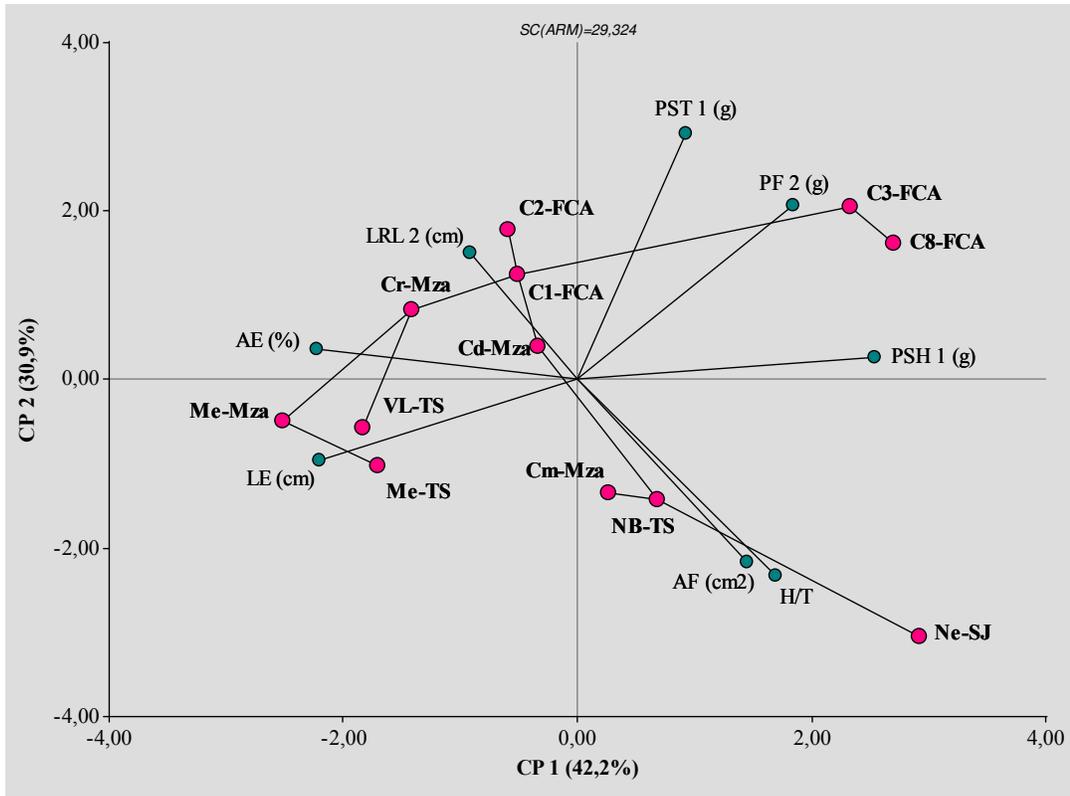
Tabla 3.5 – Parametros foliares medidos en los 12 clones de orégano evaluados.

Clon	AF (cm²)	AH (cm)	LH (cm)	AH/LH
Me-TS	0.36a	0.82b	0.77a	1.39c
VL-TS	0.53c	0.75b	1.04b	0.73b
NB-TS	0.57c	0.78b	1.15c	0.70b
Ne-SJ	0.84d	0.98c	1.35d	0.76b
Me-Mza	0.49b	0.69b	1.06b	0.82b
Cm-Mza	0.53c	0.74b	1.07b	0.70b
Cd-Mza	0.40a	0.65a	0.93b	0.83b
Cr-Mza	0.49b	0.77b	1.00b	0.92b
C₁-FCA	0.45b	0.61a	1.13c	0.55a
C₂-FCA	0.40a	0.71b	0.96b	0.89b
C₃-FCA	0.47b	0.79b	1.01b	0.95b
C₈-FCA	0.49b	0.77b	1.06b	0.88b

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”, AF: área foliar; AH: ancho de hojas; LH: largo de hojas; AH/LH: relación ancho de hojas/largo de hojas. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Del Análisis de Componentes Principales (ACP) considerando sólo las variables cuantitativas se observa que el 73,1% de la variabilidad total es explicada por el primer

plano factorial (CP 1 y CP 2). A nivel de la CP 1, componente que explica por sí sola el 42,2% de la variabilidad total, las variables con mayor peso fueron el peso seco de hoja, el peso fresco de la segunda cosecha, la longitud de entrenudos y el contenido de aceites esenciales (Figura 3.9). A nivel de la CP2, las variables con mayor inercia son el peso seco del tallo, la relación hoja/tallo y el área foliar.



C₁-FCA: clon 1 **C₂-FCA:** clon 2, **C₃-FCA:** clon 3, **C₈-FCA:** clon 8; **Me-Mza:** clon “Mendocino”, **Cm-Mza:** clon “Compacto”, **Cd-Mza:** clon “Cordobés”, **Cr-Mza:** clon “Criollo”, **Me-TS:** clon “Mendocino”, **NB-TS:** clon “Negrito B”, **VL-TS:** clon “Verde Limón”, **Ne-SJ:** clon “Negrito”; **LRL 2:** longitud de la rama más larga a los 400 días de la siembra; **LE:** longitud de entrenudos; **PST 1:** peso seco de tallos (1° cosecha); **PSH 1:** peso seco de hojas (1° cosecha); **H/T:** relación hoja/tallo; **PF 2:** peso fresco (2° cosecha); **AF:** área foliar; **AE:** contenido de aceites esenciales

Figura 3.9 – Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2), donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cuantitativas medidas La Consulta (Mendoza).

Las variables cuantitativas utilizadas para el ACP son aquellas que mejor separan los 12 clones de orégano evaluados. Considerando las mismas, se observa que se forman cuatro grupos:

- Los clones Me-Mza y Me-TS conforman un grupo que muestra mayor longitud de entrenudos y alto contenido de aceites esenciales (>2%).
- Los clones Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA conforman un grupo en el que se observa mayor longitud de la rama más larga, entrenudos largos y un contenido de aceite medio (1,44%).
- Los clones Cm-Mza, NB-TS y Ne-SJ conforman el grupo de materiales con mayor área foliar y mayor relación hoja/tallo, En cuanto al contenido de aceites, si bien son un grupo con rendimientos más bien bajos, los clones Cm-Mza y NB-TS tuvieron un rendimiento promedio de 0,9%, mientras que el contenido de aceite del clon Ne-SJ es del 0,35%.
- Los clones C₃-FCA y C₈-FCA se diferencian del resto de los clones por su mayor peso fresco, peso seco de hojas y tallos y por su bajo contenido de aceites (0,6%)

El clon VL-TS constituye un caso particular ya que, si bien es un clon de ramas y entrenudos largos, su contenido de aceites esenciales es inferior al 1%.

CARACTERES CUALITATIVOS

La tabla 3.6 resume los caracteres cualitativos observados en los 12 clones de orégano evaluados.

En cuanto al porte de las plantas, se observaron diferentes hábitos de crecimiento a lo largo del cultivo; la heterogeneidad en cuanto al hábito de crecimiento de las plantas de orégano ha sido reportada por otros autores (Droushiotis and Della, 2002). Los individuos pertenecientes a los clones NB-TS, Ne-SJ y Cm-Mza mostraron un porte predominantemente rastrero, tanto a los 85 como a los 400 días de la siembra (Tabla 3.6); mientras la totalidad de los individuos pertenecientes a los clones Me-TS, Me-Mza, Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA se caracterizaron por su porte erecto a lo largo del cultivo. Por su parte, los clones VL-TS, C₃-FCA y C₈-FCA exhibieron diferentes portes en las distintas etapas del cultivo; a los 85 días los tres clones tuvieron hábitos de crecimiento principalmente semi-rastrero, mientras que a los 400 días (cultivo productivo) mostraron porte erecto. El hábito de crecimiento de las plantas es

una característica importante a tener en cuenta, ya que las de porte semi-rastrero y/o rastrero tienden a conservar más la humedad debido a que se encuentran en contacto con el suelo, lo que las hace más propensas a sufrir enfermedades causadas por hongos y el deterioro de las hojas (Franz and Novak, 1997); por otra parte se dificulta la cosecha mecánica de los materiales (Skoula and Kamenopoulos, 1997)

Tabla 3.6 – Porcentaje de presencia de caracteres cuantitativos evaluados en 12 clones de orégano, cultivados en La Consulta (San Carlos, Mendoza).

Clon	PE ₁	PE ₂	F ₈₅	F ₁₄₀	BV	FB	EL	IL	TV	HVO	AVC
Me-TS	90	100	100	100	100	100	50	90	0	10	80
VL-TS	10	100	10	80	75	0	0	50	0	20	50
NB-TS	10	0	10	10	100	0	0	0	0	30	20
Ne-SJ	0	0	0	20	0	0	0	0	100	10	70
Me-Mza	90	100	100	100	100	100	70	90	0	0	90
Cm-Mza	10	0	50	50	100	0	0	0	0	40	30
Cd-Mza	100	100	90	100	20	0	60	10	20	0	90
Cr-Mza	100	90	90	100	0	0	90	10	20	0	50
C₁-FCA	100	100	100	100	0	0	70	0	0	0	60
C₂-FCA	100	100	100	100	0	0	90	20	10	0	30
C₃-FCA	0	100	0	80	75	80	0	10	40	50	50
C₈-FCA	40	100	10	100	100	100	0	0	50	50	50

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”; PE₁: porte erecto a los 85 días; PE₂: porte erecto a los 400 días; F₈₅: en flor a los 85 días; F₁₄₀: en flor a los 140 días; BV: brácteas verdes; FB: flores blancas; Esp-L: espiga larga; IL: inflorescencia laxa; TV: tallos verdes; HVO: hojas verde oscuro; Ap-VC: ápices verde claro.

En relación al estado fenológico de las plantas al momento de realizar las mediciones, se observó que los individuos pertenecientes a los clones Me-TS, Me-Mza, Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA se encontraban en flor (90-100%), tanto a los 85 como a los 140 días de la siembra. Las plantas pertenecientes a los clones NB-TS, Ne-SJ y Cm-Mza mostraron porcentajes de floración que no superaban el 50% en ambas fechas (85 y 140 días). La mayoría de las plantas pertenecientes a los clones VL-TS, C₃-FCA y C₈-FCA se encontraban en estado vegetativo cuando fueron evaluadas a los 85 días, mientras que a los 140 días se observó la presencia de flores en la mayoría de las plantas (70-100%). A los 400 días de la siembra, se observó la presencia de pimpollos en la mayoría de los clones, excepto en los clones Ne-SJ, C₃-FCA y C₈-FCA cuyos individuos se encontraban en estado vegetativo. Estas diferencias en tiempos de floración han sido reportadas por otros autores (Skoula and Kamenopoulos, 1997).

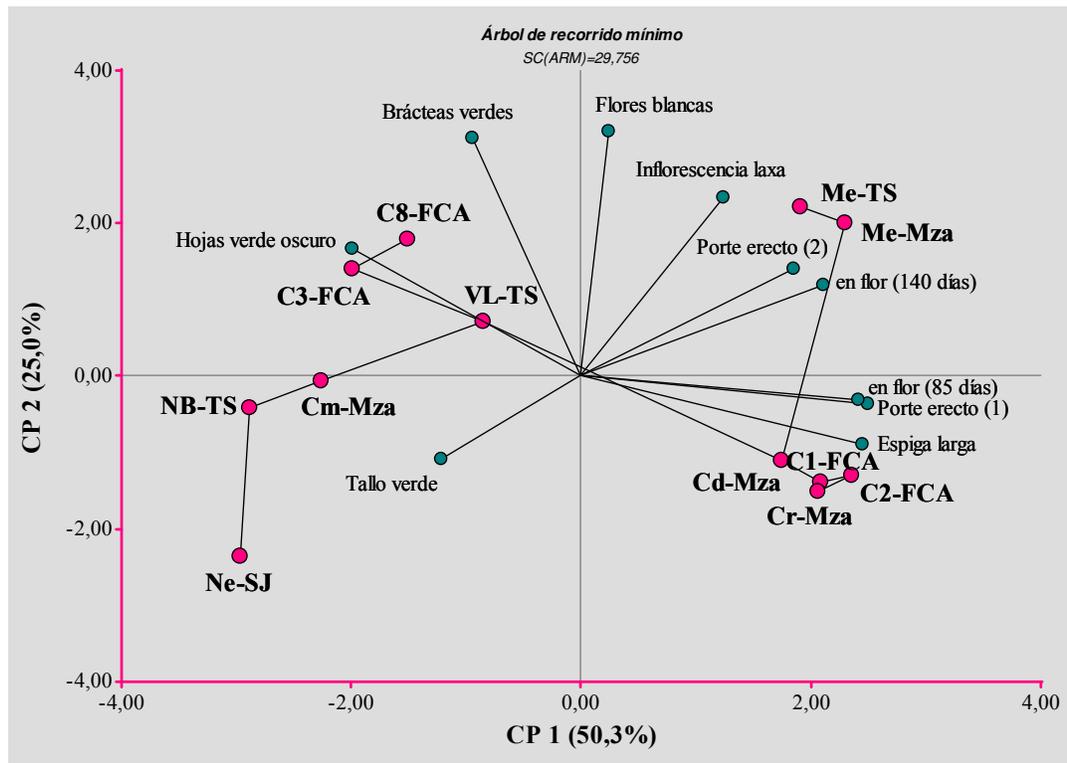
En cuanto al color de las brácteas, en Me-TS, VL-TS, NB-TS, Me-Mza, Cm-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA éstas fueron verdes siempre que fue evaluado el carácter, mientras que en los clones restantes fueron verdes-moradas y moradas. El color de las brácteas tiene un efecto importante sobre el color de la planta seca, ya que cuanto más oscuras sean darán un aspecto más oscuro al producto seco, disminuyendo su valor (Bauzá, com. pers.). Con respecto al color de las flores, se observó que los clones Me-TS, Me-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA tienen flores blancas, mientras que en el resto de los clones el color de flor varió entre rosado pálido y rosa intenso.

En cuanto al Análisis de Componentes Principales (ACP), considerando sólo las variables cualitativas, se observa que el 75,3% de la variabilidad total es explicada por las dos primeras componentes principales (CP 1 y CP2) (Figura 3.10). A nivel de la CP1, la que explica el 50,3% de la variabilidad total, se separan los clones de porte erecto y que se encuentran en floración (tanto a los 85 como a los 140 días de la siembra), cuyas espigas son largas (Figura 3.11), de aquellos clones de porte rastrero y semi-rastrero, sin flores y de hojas color verde oscuro. A nivel de la CP2, componente que explica el 25,0% de la variabilidad observada, se separan los clones que poseen brácteas verdes, flores blancas e inflorescencias más bien laxas (Figura 3.12).

Las variables cualitativas analizadas permiten agrupar los clones de orégano de la siguiente manera:

- Clones Me-Mza y Me-TS: cuyas plantas se caracterizan por su porte erecto, son de floración temprana, con flores blancas e inflorescencias más bien laxas, tallos de color verde-morado y hojas de color verde claro.
- Clones Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA: cuyas plantas son de porte erecto, también de floración temprana, con flores de color rosa pálido e inflorescencias intermedias entre compactas y densas.
- Clones Cm-Mza, NB-TS y Ne-SJ: cuyas plantas presentan porte entre rastrero y semi-rastrero, de floración tardía, con flores de color rosado intenso e inflorescencias densas situadas principalmente en el extremo de la rama.

- Clones C₃-FCA y C₈-FCA: cuyas plantas son de porte semi-rastrero a erecto, de floración tardía, con flores blanquecinas e inflorescencias densas pero distribuidas a lo largo de la rama, de tallos color verde y hojas color verde oscuro. El clon VL-TS, en aspectos cualitativos, resulta similar a los clones C₃-FCA y C₈-FCA.



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”

Figura 3.10 – Gráficos biplot de los planos conformados por las componentes principales CP1 y CP2, donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cualitativas registradas en La Consulta (Mendoza).



Figura 3.11 - Inflorescencias de orégano: a) espigas largas; b) espigas medianas y cortas

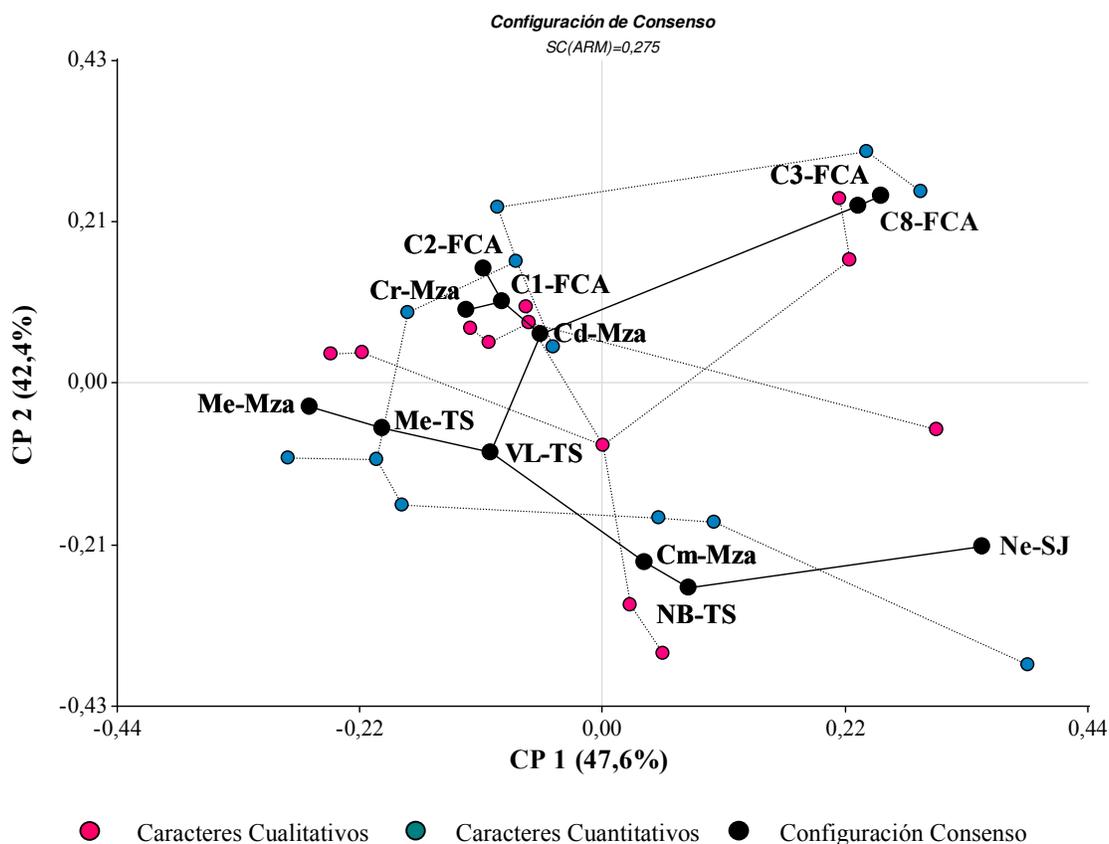


Figura 3.12 - Inflorescencias de orégano: a) laxa; b) densa

En cuanto al análisis de procrustes generalizado (APG), combinando la información obtenida a partir de caracteres cuantitativos y cualitativos, los autovalores indican que con los dos primeros ejes se explica el 90,0% de la variabilidad contenida en el total de los caracteres. Del cociente entre el consenso y la suma de cuadrados total se concluye que existe un 83,4% de consenso entre el ordenamiento producido por los caracteres cuantitativos y el producido por los caracteres cualitativos.

En la Figura 3.13 se observa el consenso entre los ordenamientos dados por las componentes principales de los caracteres cuantitativos y las componentes principales de los caracteres cualitativos. Nuevamente se distingue la formación de cuatro grupos:

- Grupo 1: constituido por los clones Me-Mza y Me-TS, a los que se une el clon VL-TS, cuyo parecido con los clones Me-Mza y Me-TS es mayor a nivel de caracteres cuantitativos.
- Grupo 2: constituido por los clones Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA, entre quienes son mayores las similitudes a nivel de caracteres cualitativos.
- Grupo 3: constituido por los clones Cm-Mza, NB-TS y Ne-SJ; las diferencias entre estos clones son mayores a nivel de caracteres cualitativos.
- Grupo 4: constituido por los clones C₃-FCA y C₈-FCA, similares tanto a nivel de caracteres cuali y cuantitativos.



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", NB-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"

Figura 3.13 – Ordenamiento de los 12 clones de orégano (EO₁) en el plano conformado por los dos primeros ejes de un APG con ARM.

ENSAYO POTRERO DE GARAY - CÓRDOBA (EO₂)

CARACTERES CUANTITATIVOS

En este ensayo también se observaron diferencias significativas entre los clones para la mayoría de las variables cuantitativas medidas (Tablas 3.7, 3.8 y 3.9).

En cuanto a la longitud de la rama más larga, medida a los 85 días de la siembra, el clon Ne-SJ se diferenció significativamente del resto, siendo el de mayor longitud, mientras que no se observaron diferencias entre los 11 clones restantes (cuya longitud de rama osciló entre 26,90 y 38,16 cm) (Tabla 3.7). Considerando la misma variable, medida a los 400 días de la siembra, se observó que los clones Me-Mza, Me-TS y VL-

TS discreparon del resto por su menor longitud (22,12 cm en promedio) y que los clones C₈-FCA (41,88 cm) y C₃-FCA (47,10 cm) se destacan por su mayor longitud; no se observaron diferencias entre los clones restantes, con una longitud de rama promedio de 33,79 cm (Tabla 3.8).

Respecto al rendimiento en peso fresco de la primera cosecha, los clones C₈-FCA, Ne-SJ, Cm-Mza y NB-TS fueron los que se destacaron por su mayor producción de biomasa fresca, con un peso fresco promedio de 61,34 g.planta⁻¹, mientras que los clones Me-Mza y Me-TS se diferenciaron del resto por su bajo rendimiento en materia fresca (en promedio 8,73 g.planta⁻¹), seguidos por el clon Cd-Mza con un rendimiento en biomasa fresca de 21,35 g.planta⁻¹. En relación al peso seco, se mantiene la tendencia observada para el peso fresco; nuevamente los clones C₈-FCA, Ne-SJ, Cm-Mza y NB-TS se diferencian significativamente del resto por su mayor rendimiento en biomasa seca, seguidos por los clones C₃-FCA, C₂-FCA, C₁-FCA, VL-TS, Cr-Mza y Cd-Mza Ne-SJ, Cm-Mza y NB-TS, con un rendimiento en materia seca promedio de 15,21 g.planta⁻¹. Finalmente los clones que mostraron el menor rendimiento en peso seco fueron Me-Mza y Me-TS (Tabla 3.7). La mayor producción de biomasa fresca y seca puede relacionarse con el mayor número de ramas por planta de los clones C₈-FCA, Ne-SJ, Cm-Mza y NB-TS (con más de 60 ramas por planta) (Tabla 3.8), con una mayor longitud de rama (C₈-FCA y Ne-SJ) y mayor área foliar (Cm-Mza y NB-TS) (Tabla 3.9). En general, los bajos rendimientos tanto en peso fresco como seco observados en la primera cosecha, inferiores a los valores reportados por Droushiotis and Della (2002) y Weglarz and Geszprych (2002), obedecen a la deshidratación que sufrió el cultivo la semana previa a la cosecha, siendo los clones Me-Mza y Me-TS los que más se resintieron ante la falta de agua.

En la segunda cosecha, los clones Ne-SJ, NS-TS, Cm-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA superaron significativamente al resto de los materiales tanto en peso fresco como seco (Tabla 3.8), con un rendimiento en biomasa fresca y seca promedio de 152,97 g.planta⁻¹ y 58,17 g.planta⁻¹, respectivamente. Los clones C₁-FCA, C₂-FCA, Cr-Mza y Cd-Mza mostraron en promedio rendimientos en materia fresca y seca de 89,31 g.planta⁻¹ y 38,02 g.planta⁻¹, mientras que los clones Me-Mza y Me-TS fueron los de menor

rendimiento tanto en peso fresco ($25,70 \text{ g.planta}^{-1}$) como seco ($11,26 \text{ g.planta}^{-1}$), al igual que en la primera cosecha, seguidos por el clon VL-TS.

En cuanto al porcentaje de agua que se pierde durante el proceso de secado, se observaron diferencias significativas entre los clones tanto en la primera como en la segunda cosecha. En ambas, los clones que registraron el menor contenido de agua fueron Me-Mza y Me-TS, los que a su vez mostraron el mayor porcentaje de fibras (Tablas 3.7 y 3.8). En este punto, es importante destacar que en la semana previa a la primera cosecha, los materiales estuvieron sometidos a una situación de estrés por falta de agua, razón por la que el porcentaje de agua perdido durante el proceso de secado es inferior al registrado en los ensayos de La Consulta y de Capilla de los Remedios. Por la misma razón, el porcentaje de fibras de los distintos clones, medido en la primera cosecha, resulta sobreestimado; sin embargo, los clones de orégano se diferencian entre sí en función de estas variables.

Si bien resulta lógico pensar que, a igual rendimiento de materia fresca, un mayor contenido de fibra (o menor pérdida de agua) equivale a un mayor rendimiento de materia seca, en este caso particular los clones que reúnen ambas características (Me-Mza y Me-TS) tiene una producción de biomasa fresca tan baja que no logran equiparar sus rendimientos con aquellos clones que tienen un mayor porcentaje de agua.

Además, se observaron diferencias significativas entre los clones en cuanto al peso seco de las hojas y los tallos y a la relación hoja/tallo (Tabla 3.7), siendo esta última variable de gran importancia a la hora de estimar rendimientos dado que son las hojas las que se destinan al consumo. Los clones que exhibieron los mayores valores para la relación hoja/tallo fueron Ne-SJ, NB-TS y Cm-Mza, coincidentemente con mayor número de ramas, mayor longitud de rama y mayor área foliar (Tabla 3.9).

Tabla 3.7 – Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en la localidad de Potrero de Garay (Santa María, Córdoba), en la primera cosecha.

Clon	LRL ₁ (cm)	PF ₁ (g pl ⁻¹)	PS ₁ (g pl ⁻¹)	Agua ₁ (%)	Fibra ₁ (%)	PSH ₁ (g pl ⁻¹)	PST ₁ (g pl ⁻¹)	H/T ₁
Me-TS	28,04a	8,90a	5,53a	39,39a	62,13b	2,51a	3,02a	0,73a
VL-TS	32,25a	36,50b	16,22b	49,58b	44,44a	10,64b	5,58a	1,68b
NB-TS	28,75a	54,85c	22,47c	57,26c	40,97a	15,99c	6,48a	2,58c
Ne-SJ	41,54b	61,70c	25,11c	58,89c	40,70a	18,62c	6,49a	3,30d
Me-Mza	33,18a	8,55a	5,05a	38,07a	59,06b	1,86a	3,19a	0,52a
Cm-Mza	26,90a	60,30c	25,11c	57,34c	41,64a	17,60c	7,51a	2,54c
Cd-Mza	29,17a	21,35a	9,91b	53,94c	46,42a	5,90b	4,01a	1,45b
Cr-Mza	33,60a	31,35b	13,21b	55,72c	42,14a	8,03b	5,17a	1,48b
C ₁ -FCA	35,42a	35,85b	16,80b	47,44b	46,86a	10,42b	6,38a	1,43b
C ₂ -FCA	33,27a	35,75b	16,81b	53,03c	47,02a	10,70b	6,11a	1,75b
C ₃ -FCA	36,91a	42,79b	18,28b	55,33c	42,72a	12,21b	7,58a	1,66b
C ₈ -FCA	38,16a	68,50c	29,54c	56,39c	43,12a	16,33c	13,20b	1,72b

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", NB-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"; LRL 1: longitud de la rama más larga a los 85 días de la siembra; PF 1: peso fresco; PS 1: peso seco; Agua 1: contenido de agua; Fibra 1: contenido de fibra; PSH 1: peso seco de las hojas; PST 1: peso seco de los tallos; H/T 1: relación peso seco de hojas/peso seco de tallos. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Con respecto al contenido de aceites esenciales (Tabla 3.8), se observó que Me-Mza y Me-TS superan significativamente del resto de los clones, con un porcentaje de aceite promedio de 3,87; luego se ubicaron los clones C2-FCA, C1-FCA, Cd-Mza, Cr-Mza, C8-FCA y C3-FCA con una media para el carácter de 1,29%; finalmente VL-TS, NB-TS, Cm-Mza y Ne-SJ fueron los de menor rendimiento en aceites, produciendo en promedio 0,48%. El rendimiento en aceites de los clones Me-Mza y Me-TS es tres veces superior al rendimiento más alto reportado por Weglarz and Geszprych (2002) y 32,5% superior al rendimiento observado por Sari and Oguz (2002) en orégano turco (*Origanum onites*), una de las especies de mayor rendimiento en aceites esenciales; situándose en el rango de rendimientos en aceites reportado por Droushiotis and Della (2002) para *Origanum dubium* (3,30-5,85%).

Tabla 3.8 – Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en Potrero de Garay (Santa María, Córdoba), segunda cosecha.

Clon	LRL ₂ (cm)	LE (cm)	Ramas (N°)	PF ₂ (g pl ⁻¹)	PS ₂ (g pl ⁻¹)	Agua ₂ (%)	Fibra ₂ (%)	AE (%)
Me-TS	21,43a	0,96a	30b	31,97a	13,76a	53,58a	46,42c	3,11c
VL-TS	24,16a	1,08b	30b	37,79a	15,80a	58,09b	41,91b	0,71a
NB-TS	31,12b	1,17b	68d	145,73c	56,30c	61,12b	38,88b	0,43a
Ne-SJ	36,41b	1,14b	83d	194,51d	64,94c	66,46c	33,54a	0,36a
Me-Mza	20,76a	0,91a	17a	19,42a	8,75a	51,12a	48,88c	4,63d
Cm-Mza	32,50b	1,14b	76d	144,86c	57,19c	59,98b	40,02b	0,41a
Cd-Mza	31,43b	1,09b	38b	66,30b	28,28b	57,24b	42,77b	1,46b
Cr-Mza	35,53b	1,35c	45b	86,06b	37,23b	56,27b	43,73b	1,19b
C ₁ -FCA	35,14b	1,17b	57c	109,65b	46,49b	57,27b	42,73b	1,49b
C ₂ -FCA	34,42b	1,11b	54c	95,23b	40,07b	57,64b	42,36b	1,56b
C ₃ -FCA	47,10d	1,22b	53c	143,99c	57,38c	59,91b	40,09b	1,00b
C ₈ -FCA	41,88c	1,22b	61c	135,78c	55,02c	58,50b	41,51b	1,01b

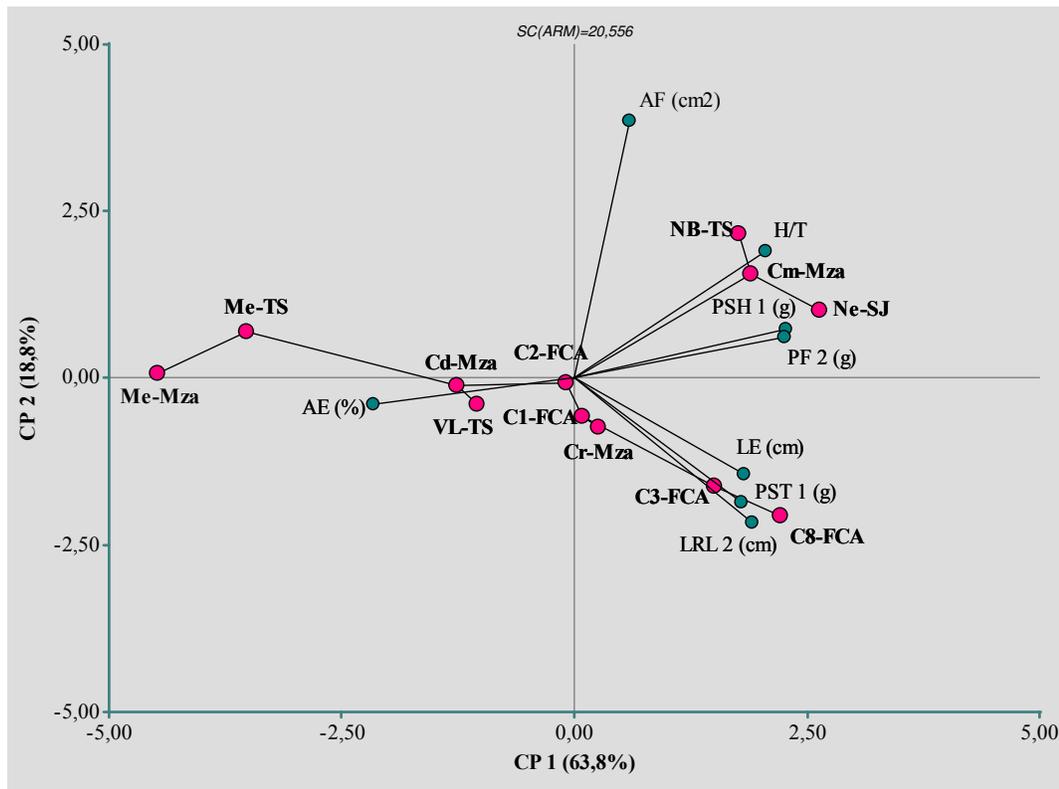
C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”; LRL 2: longitud de la rama más larga a los 400 días de la siembra; LE: longitud de entrenudos; Ramas: número de ramas.planta⁻¹; PF 2: peso fresco segunda cosecha; PS 2: peso seco segunda cosecha; Agua 2: porcentaje de agua segunda cosecha; Fibra 2: porcentaje de fibra segunda cosecha. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Tabla 3.9 – Parámetros foliares medidos en los 12 clones de orégano evaluados en la localidad de Potrero de Garay (Córdoba).

Clon	AF (cm ²)	AH (cm)	LH (cm)	AH/LH
Me-TS	0,68b	0,70a	1,32c	0,53a
VL-TS	0,36a	0,60a	0,93a	0,64a
NB-TS	1,06d	1,25d	1,54d	0,84b
Ne-SJ	0,65b	1,12c	1,69e	0,70a
Me-Mza	0,53b	0,64a	1,12b	0,57a
Cm-Mza	0,92c	1,01c	1,37c	0,77b
Cd-Mza	0,55b	0,77b	1,08b	0,82b
Cr-Mza	0,61b	0,78b	1,20b	0,76b
C ₁ -FCA	0,56b	0,82b	1,14b	0,88b
C ₂ -FCA	0,61b	0,86b	1,20b	0,85b
C ₃ -FCA	0,44a	0,69a	1,04b	0,81b
C ₈ -FCA	0,41a	0,76b	0,92a	1,00b

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”; AF: área foliar; AH: ancho de hojas; LH: largo de hojas; AH/LH: relación ancho de hojas/largo de hojas. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Del análisis de componentes principales (ACP), considerando sólo las variables cuantitativas, se observa que el 82,6% de la variabilidad total fue explicada por el primer plano factorial (CP1 y CP2). A nivel de la CP1, componente que explica por sí sola el 63,8% de la variabilidad total, las variables de mayor peso fueron el peso seco de hoja, el peso fresco medido en la segunda cosecha y el contenido de aceites esenciales; mientras que a nivel de la CP2, las variables con mayor inercia fueron área foliar y la longitud de la rama más larga (medida a los 400 días de la siembra) (Figura 3.14).



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", NB-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"

Figura 3.14 – Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2), donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cuantitativas medidas en Potrero de Garay (Cordoba).

El análisis de componentes principales muestra que los 12 clones de orégano evaluados se agrupan de la siguiente manera:

- Los clones Me-Mza y Me-TS se caracterizan principalmente por su alto contenido de aceites esenciales (>3%); se trata de individuos de baja altura y hojas pequeñas, con escasos rendimientos en peso fresco y baja relación hoja/tallo.
- Los clones Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA conforman un grupo en el que se observa mayor longitud de rama, entrenudos largos y un contenido de aceite promedio de 1,43%. El clon VL-TS constituye un caso particular ya que, si bien es un clon de ramas y entrenudos largos, su contenido de aceites esenciales es inferior al 1%, como en el ensayo anterior.
- Los clones C₃-FCA y C₈-FCA se caracterizan por ser las plantas con mayor longitud de rama y de entrenudos y con mayor peso seco de tallos; cuyo rendimiento en aceites esenciales alcanza al 1%.
- Los clones Cm-Mza, NB-TS y Ne-SJ conforman el grupo de materiales con mayor área foliar, peso fresco (PF2), mayor peso fresco de hoja y mayor relación hoja/tallo. En cuanto al contenido de aceites, es un grupo con rendimientos bajos (<0,5%).

CARACTERES CUALITATIVOS

La tabla 3.10 resume los caracteres cualitativos observados en los 12 clones de orégano evaluados.

En cuanto al porte de las plantas, se observó que los individuos pertenecientes a los clones NB-TS, Ne-SJ y Cm-Mza mostraron un porte predominantemente rastrero, tanto a los 85 como a los 400 días de la siembra (Tabla 3.8); mientras la mayoría de los individuos pertenecientes a los clones restantes se caracterizaron por su porte erecto a lo largo del cultivo. Como se señaló anteriormente, el hábito de crecimiento de las plantas es una característica importante a tener en cuenta a la hora de planificar estrategias de manejo del cultivo (Skoula and Kamenopoulos, 1997; Franz and Novak, 1997).

En relación al estado fenológico de las plantas se observó que, tanto a los 85 como a los 140 días de la siembra, plantas pertenecientes a los 12 clones se encontraban en flor, aunque en porcentajes variables (Tabla 3.8). A los 400 días de la siembra, se

observó la presencia de flores en la mayoría de los genotipos, excepto en C₃-FCA y C₈-FCA, cuyos individuos se encontraban en estado vegetativo, siendo estos clones los de floración más tardía.

Tabla 3.10 – Porcentaje de presencia de caracteres cualitativos evaluados en 12 clones de orégano, cultivados en Potrero de Garay (Santa María, Córdoba).

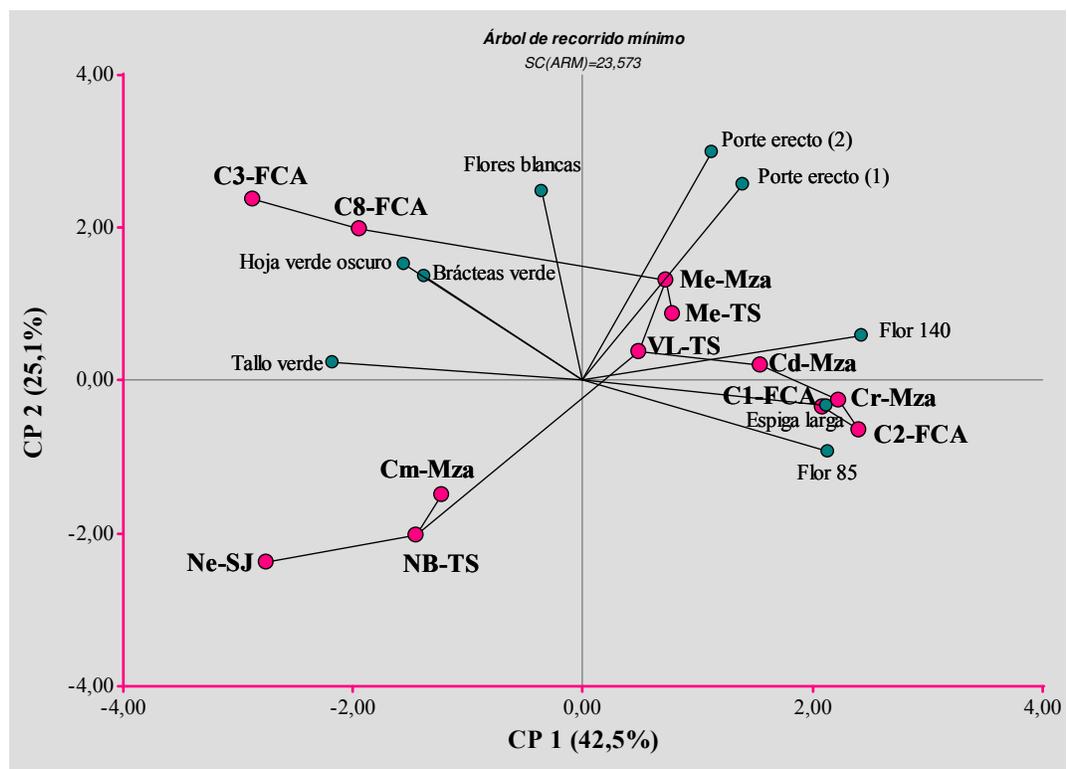
Clon	PE ₁	PE ₂	F ₈₅	F ₁₄₀	BV	FB	EL	IL	TV	HVO	AVC
Me-TS	60	80	100	100	100	100	0	0	0	0	60
VL-TS	100	80	80	100	100	0	0	0	40	0	50
NB-TS	10	0	80	80	90	0	0	0	70	0	20
Ne-SJ	0	0	30	60	25	0	0	0	100	0	10
Me-Mza	80	90	90	100	100	100	10	0	20	0	40
Cm-Mza	0	0	70	90	100	10	0	0	20	20	90
Cd-Mza	100	100	60	100	30	0	70	10	50	0	30
Cr-Mza	100	90	90	100	10	0	70	0	30	0	50
C₁-FCA	90	65	90	100	20	30	65	0	10	0	10
C₂-FCA	90	80	100	100	0	0	60	20	10	0	30
C₃-FCA	100	100	20	70	90	55	0	0	100	50	55
C₈-FCA	90	100	10	80	100	85	0	0	90	10	50

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”; PE₁: porte erecto a los 85 días; PE₂: porte erecto a los 400 días; F₈₅: en flor a los 85 días; F₁₄₀: en flor a los 140 días; BV: brácteas verdes; FB: flores blancas; Esp-L: espiga larga; IL: inflorescencia laxa; TV: tallos verdes; HVO: hojas verde oscuro; Ap-VC: ápices verde claro.

En cuanto al color de las brácteas, en la mayoría de los individuos pertenecientes a los clones Me-TS, VL-TS, NB-TS, Me-Mza, Cm-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA (90-100%) éstas fueron verdes siempre que fue evaluado el carácter, mientras que los clones restantes mostraron brácteas verdes-moradas y moradas. Como ya se mencionó, esta característica tiene un efecto importante sobre el color de la planta una vez seca, ya que cuanto más oscuras sean las brácteas darán un aspecto más oscuro al producto seco, disminuyendo su valor (Bauzá, com. pers.). Con respecto al color de las flores, se observó que en Me-TS, Me-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA éstas fueron predominantemente blancas, mientras que en el resto de los clones, variaron entre rosado pálido y rosa intenso.

En cuanto al color de los tallos, los clones Ne-SJ, C₃-FCA y C₈-FCA exhibieron coloración verde uniforme, mientras que en el resto de los clones su coloración varió entre verde-morado y morado.

El análisis de componentes principales (ACP), considerando sólo las variables cualitativas, mostró que el 67,6% de la variabilidad total es explicada por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2) (Figura 3.15). La CP1 explica el 42,5% de la variabilidad total y las variables de mayor inercia son la presencia de flores (tanto a los 85 como a los 140 días de la siembra), la longitud de espigas y el color de tallos (Figura 3.16) y hojas; mientras que a nivel de la CP2, componente que explica el 25,1% de la variabilidad observada, las variables de mayor peso son el porte de las plantas (tanto a los 85 como a los 140 días de la siembra) y el color de las flores (Figura 3.17).



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", NB-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"

Figura 3.15 – Gráficos biplot de los planos conformados por las componentes principales CP1 y CP2, donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cualitativas registradas en Potrero de Garay (Córdoba)



Figura 3.16 – Color de tallo: a) verde; b) morado



Figura 3.17 – Color de flor: a) blanco; b) rosado; c) rosado intenso/violeta

Las variables cualitativas analizadas permiten diferenciar nuevamente cuatro grupos de oréganos:

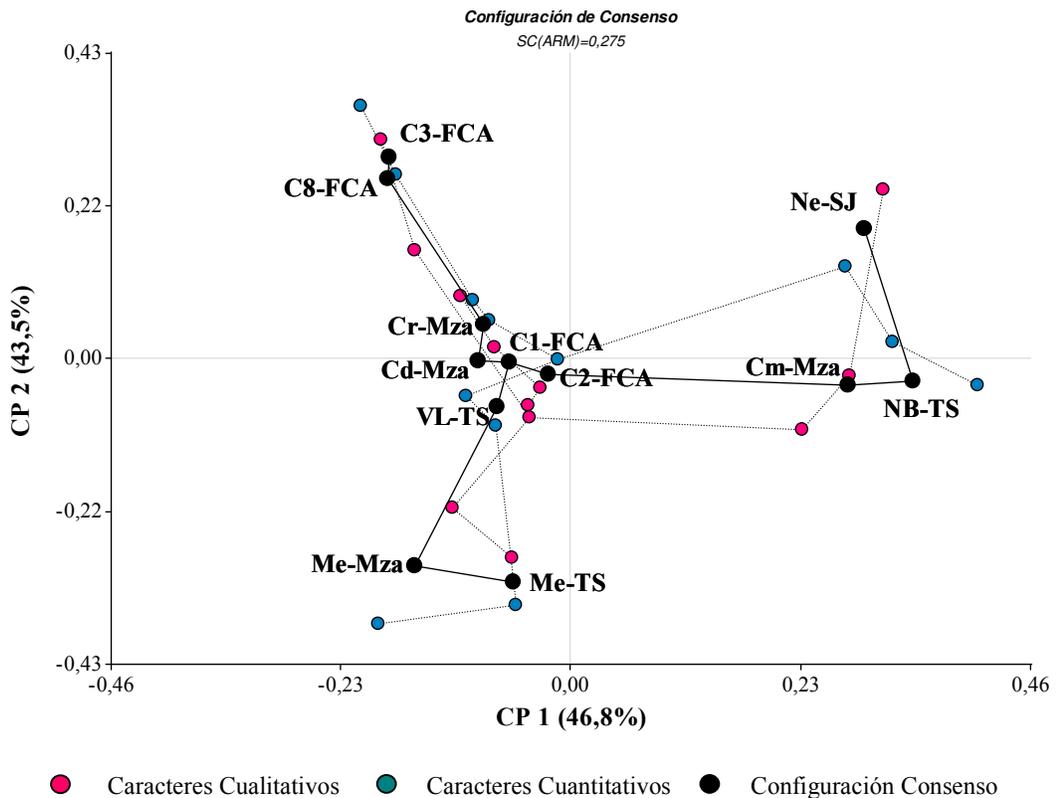
- Clones Me-Mza y Me-TS: cuyas plantas son erectas, de floración temprana, con flores blancas y brácteas verdes. Podemos incluir en este grupo al clon VL-TS que, en función de los caracteres cualitativos evaluados, resulta fenotípicamente similar a los clones Me-Mza y Me-TS.
- Clones Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA: cuyas plantas son erectas, de floración temprana, con brácteas verde-morado, flores rosa pálido y espigas largas.

- Clones Cm-Mza, NB-TS y Ne-SJ: cuyas plantas son de porte rastrero, floración tardía, tallos verde uniforme y hojas verde oscuro; con brácteas verdes y flores rosadas.
- Clones C₃-FCA y C₈-FCA: con plantas de porte entre semi-erecto y erecto, de floración tardía, con flores blanquecinas, brácteas verde, de tallos verde uniforme y hojas verde oscuro.

En cuanto al análisis de procrustes generalizado (APG), combinando la información obtenida a partir de caracteres cuantitativos y cualitativos, los autovalores indican que con los dos primeros ejes se explica el 90,4% de la variabilidad contenida en el total de los caracteres. Del cociente entre el consenso y la suma de cuadrados total se concluye que existe un 86,6% de consenso entre el ordenamiento producido por los caracteres cuantitativos y el producido por los caracteres cualitativos medidos.

En la Figura 3.18 se observa el consenso entre los ordenamientos dados por las componentes principales de los caracteres cuantitativos y las componentes principales de los caracteres cualitativos, donde nuevamente se distingue la formación de cuatro grupos:

- Grupo 1: constituido por los clones Me-Mza y Me-TS, cuyo parecido es mayor a nivel de caracteres cualitativos.
- Grupo 2: constituido por los clones Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA, a los que se une el clon VL-TS. Puede observarse que las similitudes entre estos clones son mayores a nivel de caracteres cualitativos.
- Grupo 3: constituido por los clones Cm-Mza, NB-TS y Ne-SJ; entre los cuales son mayores las similitudes a nivel de caracteres cuantitativos.
- Grupo 4: constituido por los clones C₃-FCA y C₈-FCA, entre los cuales se observa mayor similitud a nivel de caracteres cuantitativos.



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”

Figura 3.18 – Ordenamiento de los 12 clones de orégano (EO₂) en el plano conformado por los dos primeros ejes de un APG con ARM.

ENSAYO CAMPO ESCUELA (FCA-UNC) - CÓRDOBA (EO₃)

CARACTERES CUANTITATIVOS

Los resultados del análisis de la varianza muestran que existen diferencias significativas entre los clones para la mayoría de las variables cuantitativas medidas (Tablas 3.11, 3.12 y 3.13).

Con respecto a la longitud de la rama más larga, medida a los 85 días de la siembra, los clones VL-TS, Cm-Mza, NB-TS, C₈-FCA, C₃-FCA y Ne-SJ se diferenciaron significativamente del resto, registrando los menores valores para esta

variable (entre 14,03 y 21,22 cm) (Tabla 3.11). Cuando esta variable se determinó a los 400 días de la siembra, Ne-SJ y VL-TS se diferencian de los restantes por su menor longitud de rama (15,34 cm en promedio), mientras que Cd-Mza y Cr-Mza se destacaron por su mayor longitud (40,16 cm). No se observaron diferencias entre los genotipos restantes, cuya longitud de rama promedio fue de 27,44 cm (Tabla 3.12).

En relación al rendimiento en peso fresco de la primera cosecha, se distinguieron dos grupos significativamente diferentes. Los clones C₈-FCA, Cm-Mza, NB-TS, C₃-FCA y Ne-SJ conforman el grupo superior, con una producción de biomasa fresca promedio de 228,77 g.planta⁻¹, superando en un 75,14% al grupo de menores valores para la variable constituido por los siete clones restantes, que tuvieron un rendimiento de peso fresco promedio de 130,62 g.planta⁻¹. La misma tendencia se observa en relación al peso seco, donde los clones Cm-Mza, NB-TS, C₈-FCA y Ne-SJ se diferencian significativamente del resto por sus valores superiores que promediaron 69,75 g.planta⁻¹ (Tabla 3.11). Al igual que en los ensayos de La Consulta y Potrero de Garay, los clones con mayor producción de biomasa fresca y seca se caracterizan en general por la presencia de un mayor número de ramas por planta (más de 70 ramas por planta), menor longitud de entrenudos (Tabla 3.12) y mayor área foliar (Tabla 3.13). Nuevamente, los valores observados para las variables peso fresco y peso seco se ubican dentro del rango reportado por Droushiotis and Della (2002) y Weglarz and Geszprych (2002).

Si bien en la segunda cosecha se observan diferencias entre los clones tanto en peso fresco como seco (Tabla 3.12), debido a la fuerte predación por hormigas que sufrieron las plantas, los rendimientos no reflejan el potencial real de cada genotipo. Aunque todos los clones fueron atacados por estos insectos, Ne-SJ, VL-TS, Me-TS, C₈-FCA y C₃-FCA fueron los más afectados, siendo Ne-SJ el que vio más disminuido su rendimiento tanto de biomasa fresca como seca (50,01 g.planta⁻¹ y 16,75 g.planta⁻¹, respectivamente). Teniendo en cuenta el comportamiento agronómico del mismo, tanto en los ensayos realizados en La Consulta y Potrero de Garay como en la primera cosecha de este ensayo, cabe suponer que en condiciones normales (sin predación), el rendimiento de este clon hubiese sido muy superior. Es más, resulta lógico suponer que, en ausencia de hormigas, en la segunda cosecha se mantendría la tendencia observada

en el primer corte para todos los clones. Independientemente del ataque de los insectos, se observa que los clones VL-TS y Me-TS constituyen generalmente el grupo de menor rendimiento tanto fresco como seco, al igual que en los ensayos 1 y 2. Los clones NB-TS, Cm-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA, que fueron los de mayor rendimiento en la primera cosecha y el clon Me-Mza (de bajo rendimiento en el primer corte) (Tabla 3.11), no se diferenciaron significativamente de los clones C₁-FCA, C₂-FCA y Cd-Mza, con un rendimiento de peso fresco promedio de 106,69 g.planta⁻¹. Finalmente el clon Cr-Mza superó significativamente al resto de los materiales, con valores de 162,36 g.planta⁻¹. En cuanto al peso seco, los clones VL-TS, Ne-SJ, Me-TS, C₈-FCA y C₃-FCA tuvieron un rendimiento promedio de 24,34 g planta⁻¹; Me-Mza, Cm-Mza, C₁-FCA, NB-TS, Cd-Mza y C₂-FCA rindieron en promedio 50,21 g.planta⁻¹ mientras que Cr-Mza superó significativamente al resto con una producción de biomasa fresca promedio de 77.14 g.planta⁻¹ (Tabla 3.12).

En cuanto al porcentaje de agua que se pierde durante el proceso de secado, se observaron diferencias significativas entre los clones tanto en la primera como en la segunda cosecha. En la primera cosecha, C₈-FCA se diferenció significativamente del resto de los clones, con un contenido de agua un 5,71% superior al de los 11 clones restantes, siendo, además, el genotipo con menor contenido de fibras (Tabla 3.11). En la segunda cosecha, el de mayor contenido de agua fue Ne-SJ (65,46%), valor que resultó en promedio un 7,58% superior al observado para los clones (Tabla 3.12). En cuanto al contenido de fibra en la segunda cosecha, los clones que registraron el mayor valor para esta variable fueron Cd-Mza, C₂-FCA, Cr-Mza, Me-TS, VL-TS y Me-Mza, con un contenido de fibra promedio de 45,54% (Tabla 3.12). Como ya se señaló anteriormente, cabe suponer que a igual rendimiento en materia fresca un mayor contenido de fibra (menor contenido de agua) equivaldrá a un mayor rendimiento en materia seca.

En cuanto al peso seco de las hojas y los tallos y a la relación hoja/tallo, también se observaron diferencias significativas entre los genotipos (Tabla 3.11). Los que mostraron los mayores valores para la relación hoja/tallo fueron NB-TS, Me-TS y Cm-Mza; que se caracterizaron por tener entrenudos más cortos, mayor número de ramas y mayor área foliar (clones NB-TS y Cm-Mza) (Tablas 3.12 y 3.13) y por el bajo peso de los tallos (clon Me-TS) (Tabla 3.11).

Con respecto al contenido de aceites esenciales, Me-Mza y Me-TS se diferenciaron significativamente del resto de los clones, con un contenido promedio de 2,15% (Tabla 3.14). No se observaron diferencias para esta variable entre los 10 clones restantes, en los cuales el contenido osciló entre 0,33% y 1,11%. Según Kokkini (1997), en función del rendimiento de aceites esenciales es posible clasificar los distintos genotipos de orégano en tres grupos: a) aquéllos que producen menos de 0,05% (“pobres” en aceites), b) aquéllos con un contenido de aceites entre 0,05 y 2% y c) aquéllos con un rendimiento en aceites esenciales superior al 2% (“ricos” en aceites). Tanto en este ensayo como en los llevados a cabo en La Consulta y en Potrero de Garay, se distinguieron oréganos pertenecientes a los tres grupos. Los clones denominados “Mendocinos” pertenecen al grupo de oréganos ricos en aceites esenciales, con un rendimiento que en las tres localidades superó el 2%; mientras que los clones denominados “Compacto” y “Negritos” pertenecen al grupo de los oréganos pobres en aceites, estos resultados coinciden con los observados por De Mastro (1997). Franz y Novak (2002) proponen dar un uso diferencial a la producción de orégano en función de su rendimiento de aceites esenciales, destinando al consumo como hierba seca a aquellos materiales con 1 a 3% de aceites; dejando para la producción de esencias a los oréganos cuyo contenido de aceites esenciales supere el 3%. La producción de orégano destinada a la obtención de aceites esenciales cobra importancia si pensamos que los mismos y/o sus componentes representan una fuente potencialmente importante de compuestos farmacológicamente activos, como analgésicos, antiinflamatorios, antitumorales, antimicrobianos y digestivos (Zygadlo y Juliani, 2000) y como agroquímicos, en especial como herbicidas (Zunino y Zygadlo, 2004). Particularmente, se ha probado que el aceite esencial de orégano tiene una fuerte actividad antioxidante en alimentos con alto contenido en lípidos como el maní frito-salado (Olmedo *et al.*, 2008 y 2009).

Tabla 3.11 – Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en Campo Escuela de la FCA - UNC (Camino a Capilla de los Remedios Km 15 y 1/2, Córdoba), en la primera cosecha.

Clon	LRL ₁ (cm)	PF ₁ (g pl ⁻¹)	PS ₁ (g pl ⁻¹)	Agua ₁ (%)	Fibra ₁ (%)	PSH ₁ (g pl ⁻¹)	PST ₁ (g pl ⁻¹)	H/T ₁
Me-TS	26,01b	113,55a	35,12a	69,58a	30,93b	25,94a	9,18a	3,22b
VL-TS	14,03a	113,48a	31,85a	72,04a	28,07b	20,07a	11,78a	2,09a
NB-TS	17,04a	227,26b	63,99b	72,03a	28,16b	45,92b	18,07a	3,16b
Ne-SJ	21,22a	275,49b	84,81b	69,45a	30,79b	53,99b	30,82b	2,27a
Me-Mza	31,86b	143,58a	43,60a	70,16a	30,37b	31,10a	12,50a	2,70a
Cm-Mza	16,26a	211,80b	62,86b	70,70a	29,68b	43,67b	19,19a	3,60b
Cd-Mza	26,59b	140,52a	41,04a	70,88a	29,21b	24,20a	16,84a	1,77a
Cr-Mza	26,49b	145,49a	40,27a	72,24a	27,68b	23,91a	16,36a	1,54a
C1-FCA	31,67b	125,22a	37,81a	70,03a	30,19b	22,60a	15,21a	1,65a
C2-FCA	25,96b	132,50a	36,57a	72,43a	27,60b	21,85a	14,71a	1,73a
C3-FCA	19,71a	240,43b	67,35b	72,17a	28,01b	44,27b	23,07b	2,28a
C8-FCA	16,32a	188,87b	45,98a	75,12b	24,34a	32,18a	13,80a	2,79a

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”; LRL: longitud de la rama más larga; PF: Peso fresco; PS: Peso seco; Agua: contenido de agua; Fibra: contenido de fibra; PSH: peso seco de las hojas; PST: peso seco de los tallos; Relación H/T: peso seco de hoja/peso seco de tallos. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Tabla 3.12 – Valores medios para las variables cuantitativas medidas en 12 clones de orégano, evaluados en el Campo Escuela de la FCA - UNC (Camino a Capilla de los Remedios Km 15 y 1/2, Córdoba), segunda cosecha.

Clon	LRL ₂ (cm)	LE (cm)	Ramas (n° pl ⁻¹)	PF ₂ (g pl ⁻¹)	PS ₂ (g pl ⁻¹)	Agua ₂ (%)	Fibra ₂ (%)	AE (%)
Me-TS	22,91b	1,24b	86a	62,04a	29,06a	53,66a	46,34c	1,91b
VL-TS	17,30a	0,75a	97a	28,36a	12,55a	55,22a	44,78c	0,52a
NB-TS	25,78b	0,90a	188b	134,77b	53,88b	60,17b	39,83b	0,80a
Ne-SJ	13,37a	0,86a	74a	50,01a	16,75a	65,46c	34,54a	0,41a
Me-Mza	31,96b	1,29b	76a	93,35b	42,15b	56,01a	43,99c	2,38c
Cm-Mza	28,51b	0,87a	147a	112,26b	44,74b	59,71a	40,29b	0,76a
Cd-Mza	39,77c	1,38b	125a	116,37b	55,77b	52,81a	47,19c	1,11a
Cr-Mza	40,55c	1,34b	157b	162,36c	77,14c	52,97a	47,03c	0,88a
C1-FCA	29,46b	1,22b	126a	109,79b	47,33b	57,76a	42,24c	0,73a
C2-FCA	34,24b	1,24b	142b	119,16b	57,39b	52,81a	47,19c	0,82a
C3-FCA	22,51b	0,87a	102a	86,87b	31,89a	62,34b	37,67b	0,33a
C8-FCA	24,12b	0,82a	110a	80,98b	31,43a	60,04b	39,96b	0,52a

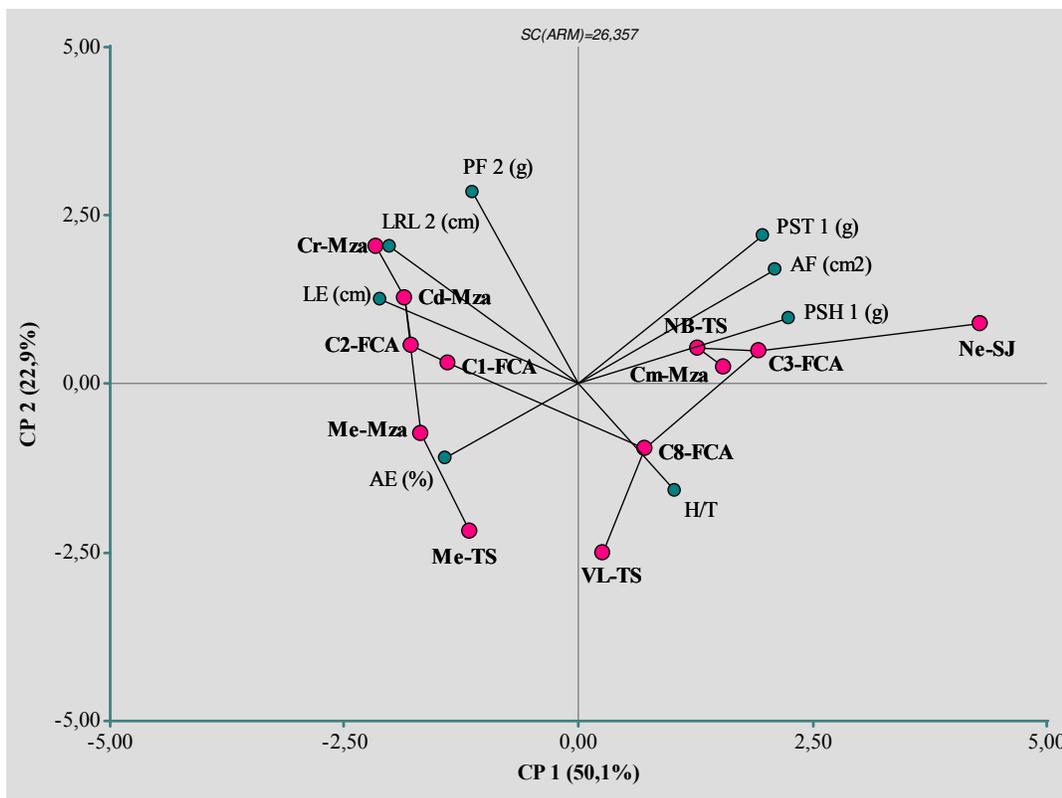
C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”; LRL₂: longitud de la rama más larga a los 400 días de la siembra; LE: longitud de entrenudos; Ramas: número de ramas planta⁻¹; PF₂: peso fresco segunda cosecha; PS₂: peso seco segunda cosecha; Agua₂: porcentaje de agua segunda cosecha; Fibra₂: porcentaje de fibra segunda cosecha. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Tabla 3.13 – Parámetros foliares medidos en los 12 clones de orégano evaluados en el Campo Escuela de la FCA - UNC (Camino a Capilla de los Remedios, Córdoba).

Clon	AF (cm²)	AH (cm)	LH (cm)	AH/LH
Me-TS	0,53a	0,69a	1,05b	0,66a
VL-TS	0,48a	0,76b	0,98a	0,85b
NB-TS	0,71b	0,81b	1,25c	0,67a
Ne-SJ	0,96c	0,93c	1,43d	0,66a
Me-Mza	0,57a	0,76b	1,07b	0,72a
Cm-Mza	0,74b	0,83b	1,26c	0,66a
Cd-Mza	0,62a	0,70a	1,29c	0,55a
Cr-Mza	0,60a	0,71a	1,28c	0,56a
C₁-FCA	0,52a	0,66a	1,20c	0,55a
C₂-FCA	0,52a	0,69a	1,11b	0,63a
C₃-FCA	0,69b	0,81b	1,28c	0,65a
C₈-FCA	0,61a	0,77b	1,21c	0,66a

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; **Me-Mza**: clon “Mendocino”, **Cm-Mza**: clon “Compacto”, **Cd-Mza**: clon “Cordobés”, **Cr-Mza**: clon “Criollo”, **Me-TS**: clon “Mendocino”, **NB-TS**: clon “Negrito B”, **VL-TS**: clon “Verde Limón”, **Ne-SJ**: clon “Negrito”; **AF**: área foliar; **AH**: ancho de hojas; **LH**: largo de hojas; **AH/LH**: relación ancho de hojas/largo de hojas. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Del análisis de componentes principales (ACP), considerando sólo las variables cuantitativas, se observa que el 73% de la variabilidad total es explicada por el primer plano factorial formado por las dos primeras componentes principales (Figura 3.19). A nivel de la CP1, componente que explica por sí sola el 50,1% de la variabilidad total, las variables de mayor peso fueron el peso seco de hoja, área foliar, el peso seco de tallos, la longitud de entrenudos y el contenido de aceites esenciales. A nivel de la CP2, que explica el 22,9% de la variabilidad total observada, las variables de mayor peso fueron el peso fresco medido en la segunda cosecha, la relación hoja/tallo y la longitud de la rama más larga.



C₁-FCA: clon 1 **C₂-FCA:** clon 2, **C₃-FCA:** clon 3, **C₈-FCA:** clon 8; **Me-Mza:** clon “Mendocino”, **Cm-Mza:** clon “Compacto”, **Cd-Mza:** clon “Cordobés”, **Cr-Mza:** clon “Criollo”, **Me-TS:** clon “Mendocino”, **NB-TS:** clon “Negrito B”, **VL-TS:** clon “Verde Limón”, **Ne-SJ:** clon “Negrito”

Figura 3.19 – Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2), donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cuantitativas medidas en el Campo Escuela, FCA – UNC (Córdoba).

El análisis de componentes principales muestra que los 12 clones de orégano evaluados tienden a agruparse de manera similar a la observada en los ensayos 1 y 2:

- Clones Me-Mza y Me-TS: caracterizados principalmente por su alto contenido de aceites esenciales (>2%), de hojas más bien pequeñas, con bajos rendimientos de peso fresco y alta relación hoja/tallo (en comparación con el resto de los clones).
- Clones Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA: caracterizados por tener mayor peso fresco, mayor longitud de la rama y de entrenudos largos y un contenido de aceite medio (0.89% en promedio).

- Clones Cm-Mza y NB-TS Ne-SJ: caracterizados por ser los de mayor área foliar, mayor peso fresco y un contenido de aceites esenciales levemente superior al 0,60%.
- Clones C₃-FCA y C₈-FCA: caracterizados por ser plantas con entrenudos cortos, cuyo rendimiento de aceites esenciales es inferior al 0,5%.

Con respecto a los clones VL-TS y Ne-SJ, cuyos rendimientos en aceites esenciales fueron bajos (Tabla 3.12), es necesario destacar que fueron los clones más afectados por las hormigas por lo que la longitud de rama medida no es representativa de estos clones. En cuanto al área foliar y al número de ramas por planta, el clon Ne-SJ es muy similar a los clones Cm-Mza y NB-TS, mientras que el clon VL-TS se asemeja a los clones Me-TS y Me-Mza.

CARACTERES CUALITATIVOS

Considerando los caracteres cualitativos evaluados, los clones se agrupan de manera similar a la observada en los ensayos 1 y 2. En cuanto al porte de las plantas se observó que, tanto a los 85 como a los 400 días de la siembra, los individuos pertenecientes a NB-TS, Ne-SJ y Cm-Mza mostraron un porte predominantemente rastrero (Tabla 3.14); mientras que los pertenecientes a los nueve clones restantes se caracterizaron por su porte erecto a lo largo del cultivo.

En relación al estado fenológico de las plantas, se observó que a los 85 días de la siembra NB-TS, Ne-SJ, Cr-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA se encontraban en estado vegetativo (sin pimpollos ni flores), mientras que el porcentaje de floración en el resto de los clones ya oscilaba entre el 10% y el 70% (Tabla 3.14). A los 140 días de la siembra, individuos pertenecientes al clon NB-TS se hallaban en estado vegetativo, en tanto Ne-SJ, C₃-FCA y C₈-FCA no superaban el 20% de floración; en los clones restantes el porcentaje de plantas en flor osciló entre el 50% y el 90%. Los bajos porcentajes de floración observados a los 400 días de la siembra se deben a que las flores fueron comidas por las hormigas. Independientemente del efecto de los predadores, los porcentajes de floración registrados en los distintos momentos del cultivo permiten distinguir los clones de floración temprana de aquéllos de floración

más tardía y se pudo diferenciar también los clones que florecen sólo una vez al año de aquellos que florecen dos veces en el ciclo (Tabla 3.14).

Tabla 3.14 – Porcentaje de presencia de caracteres cuantitativos evaluados en 12 clones de orégano, cultivados en el Campo Escuela de la FCA (Camino a Capilla de los Remedios Km 15 y 1/2, Córdoba).

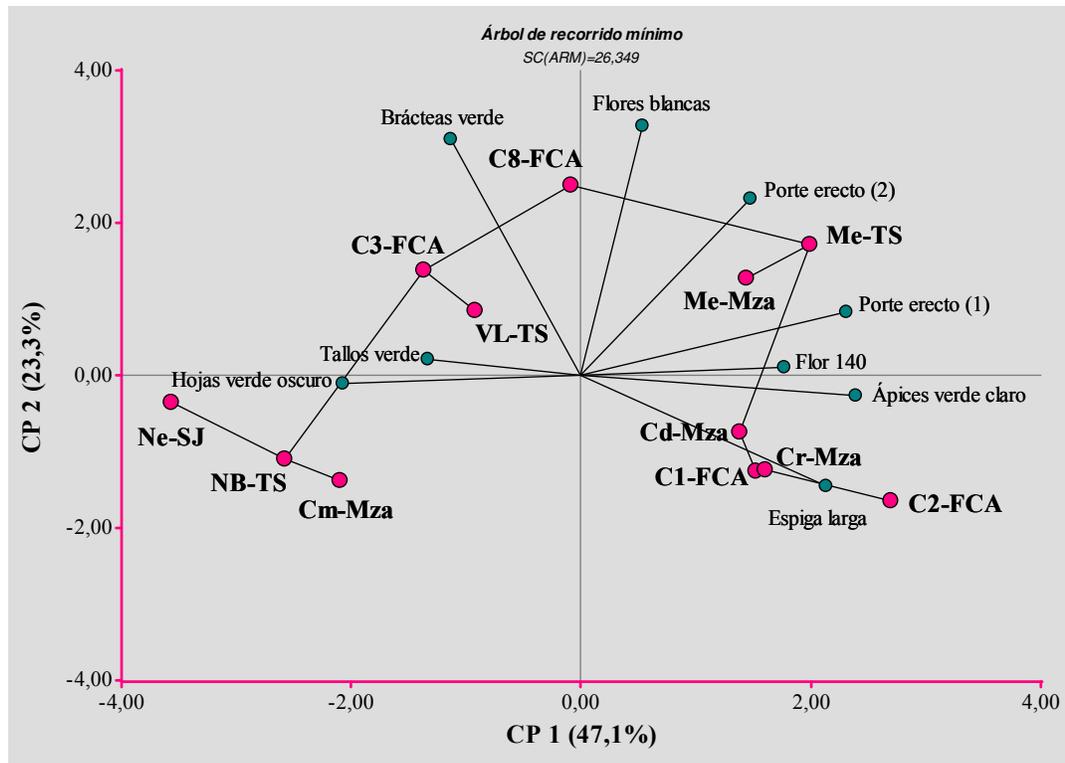
Clon	PE ₁	PE ₂	F ₈₅	F ₁₄₀	BV	FB	EL	IL	TV	HVO	AVC
Me-TS	90	100	50	90	100	75	20	10	0	0	70
VL-TS	80	100	10	50	100	0	0	0	0	45	20
NB-TS	0	0	0	0	60	0	0	0	0	45	33
Ne-SJ	0	0	0	10	100	0	0	0	60	20	0
Me-Mza	90	50	70	90	100	75	15	15	10	0	75
Cm-Mza	0	0	60	60	33	0	0	0	0	50	20
Cd-Mza	100	70	20	60	15	0	15	15	0	0	55
Cr-Mza	100	60	0	50	0	0	25	10	0	0	60
C₁-FCA	100	50	20	60	0	0	20	0	0	0	60
C₂-FCA	90	70	10	50	0	0	50	0	0	0	90
C₃-FCA	30	90	0	20	100	50	0	0	0	20	10
C₈-FCA	100	100	0	10	100	100	0	0	10	20	50

C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon “Mendocino”, Cm-Mza: clon “Compacto”, Cd-Mza: clon “Cordobés”, Cr-Mza: clon “Criollo”, Me-TS: clon “Mendocino”, NB-TS: clon “Negrito B”, VL-TS: clon “Verde Limón”, Ne-SJ: clon “Negrito”; PE₁: porte erecto a los 85 días; PE₂: porte erecto a los 400 días; F₈₅: en flor a los 85 días; F₁₄₀: en flor a los 140 días; BV: brácteas verdes; FB: flores blancas; Esp-L: espiga larga; IL: inflorescencia laxa; TV: tallos verdes; HVO: hojas verde oscuro; Ap-VC: ápices verde claro.

En cuanto al color de las brácteas, la mayoría de las plantas pertenecientes a Me-TS, VL-TS, Ne-SJ, Me-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA (100%) exhibieron brácteas verdes siempre que fue evaluado el carácter; en el 60% de los individuos pertenecientes al clon NB-TS éstas fueron verdes, mientras que en los clones Cm-Mza y Cd-Mza las plantas con brácteas verdes no superaron el 33%. Los clones Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA se caracterizaron por tener brácteas entre verdes-moradas y moradas. Con respecto al color de las flores, se observó que en Me-TS, Me-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA éstas son predominantemente blancas, mientras que en el resto de los clones variaron entre rosado pálido y rosa intenso.

En cuanto al color de los tallos, en Ne-SJ, C₃-FCA y C₈-FCA fueron verde uniforme, mientras que en el resto de los clones se observó que la coloración varió entre verde-morado y morado. En relación al color de las hojas, en los clones VL-TS, NB-TS,

Ne-SJ, Cm-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA, éstas presentaron una coloración verde más intensa que la observada en el resto.



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", NB-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"

Figura 3.20 – Gráficos biplot de los planos conformados por las componentes principales CP1 y CP2, donde los puntos representan los 12 clones de orégano evaluados y los vectores, las variables cualitativas medidas en el Campo Escuela de la FCA-UNC (Córdoba)

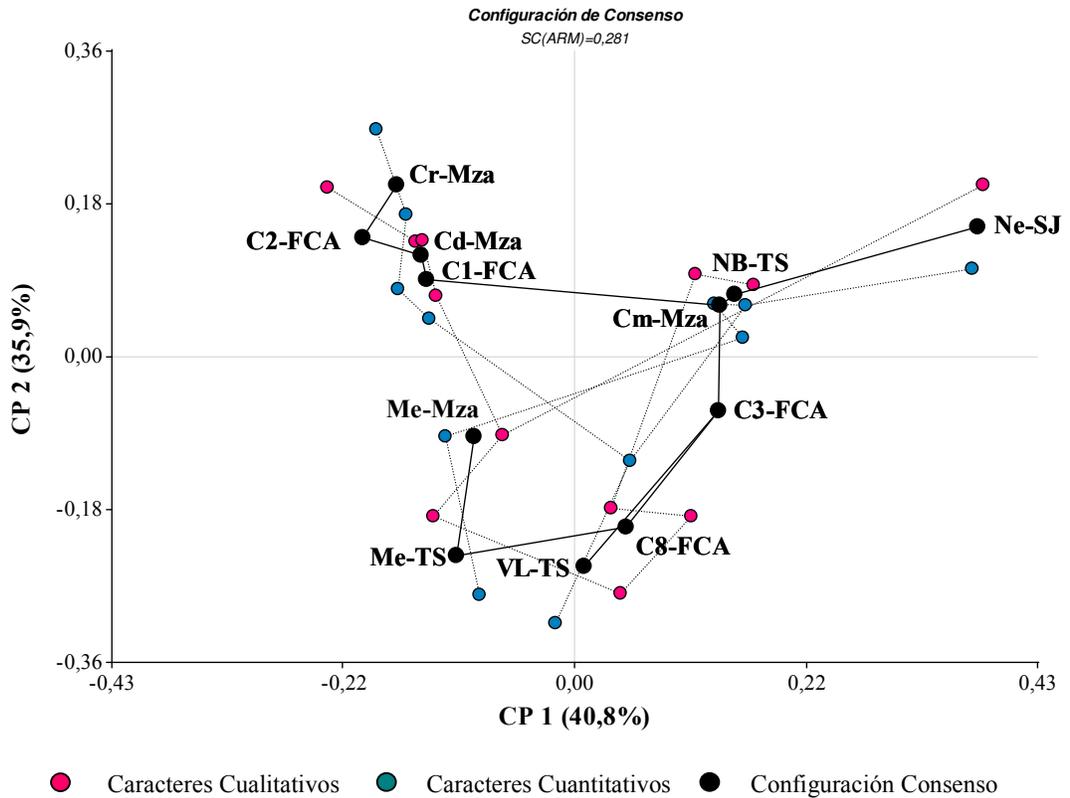
El análisis de componentes principales (ACP) de las variables cualitativas muestra que el 70,4% de la variabilidad total es explicada por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2) (Figura 3.20). A nivel de la CP1, componente que explica el 47,1% de la variabilidad total, las variables con más inercia fueron el color de los ápices, el color de las hojas, porte erecto a los 85 días, la presencia de flores a los 140 días de la siembra y de espigas largas color verde claro; mientras que, a nivel de la CP2 (componente que explica el 23,3% de la variabilidad observada) las variables que permiten establecer diferencias entre los clones son: el porte erecto a los 400 días de la siembra, el color de las brácteas y el color de las flores (Figura 3.20)

Las variables cualitativas analizadas permiten agrupar los clones de orégano de la siguiente manera:

- Clones Me-Mza y Me-TS: plantas caracterizadas por su porte erecto, de floración temprana (con flores blancas y brácteas verdes), hojas y ápices foliares predominantemente verde claro y tallos morados.
- Clones Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA: caracterizados por la presencia de plantas erectas, de floración temprana (con brácteas verde-morado y flores rosa pálido), espigas largas, tallos morados, hojas y ápices foliares predominantemente verde claro.
- Clones Cm-Mza, NB-TS y Ne-SJ: plantas caracterizadas por su porte principalmente rastrero, de floración tardía (con flores rosadas y brácteas verdes), hojas y ápices foliares verde oscuro y espigas cortas.
- Clones C₃-FCA y C₈-FCA: cuyas plantas se caracterizan por su porte erecto; de floración tardía (con flores blanquecinas y brácteas verdes), hojas y ápices foliares verde oscuro. El clon VL-TS comparte características con los clones C₃-FCA y C₈-FCA, diferenciándose de éstos por el color de las flores, las flores del clon VL-TS son rosadas.

En cuanto al análisis de procrustes generalizado (APG), combinando la información obtenida de caracteres cuantitativos y cualitativos, los autovalores indican que, con los dos primeros ejes, se explica el 76,7% de la variabilidad contenida en el total de los caracteres. Del cociente entre el consenso y la suma de cuadrados total se concluye que existe un 80,4% de consenso entre el ordenamiento producido por los caracteres cuantitativos y el consenso producido por los caracteres cualitativos medidos.

En la Figura 3.21 se observa el consenso entre los ordenamientos dados por las componentes principales de los caracteres cuantitativos y las componentes principales de los caracteres cualitativos, donde nuevamente se distingue la formación de cuatro grupos:



C₁-FCA: clon 1 **C₂-FCA:** clon 2, **C₃-FCA:** clon 3, **C₈-FCA:** clon 8; **Me-Mza:** clon "Mendocino", **Cm-Mza:** clon "Compacto", **Cd-Mza:** clon "Cordobés", **Cr-Mza:** clon "Criollo", **Me-TS:** clon "Mendocino", **NB-TS:** clon "Negrito B", **VL-TS:** clon "Verde Limón", **Ne-SJ:** clon "Negrito"

Figura 3.21 – Ordenamiento de los 12 clones de orégano (EO₃) en el plano conformado por los dos primeros ejes de un APG con ARM.

- Grupo 1: constituido por los clones Me-Mza y Me-TS, cuyo parecido es mayor a nivel de caracteres cualitativos.
- Grupo 2: constituido por Cd-Mza, Cr-Mza, C₁-FCA y C₂-FCA; puede observarse que las similitudes entre estos clones son mayores a nivel de caracteres cualitativos.
- Grupo 3: constituido por los clones Cm-Mza, NB-TS y Ne-SJ; entre los que son mayores las similitudes a nivel de caracteres cuantitativos.
- Grupo 4: constituido por los clones C₃-FCA y C₈-FCA, entre los que se observa mayor similitud a nivel de caracteres cualitativos.

INTERACCIÓN CLON X LOCALIDAD

Uno de los aspectos a tener en cuenta cuando se lleva a cabo la evaluación de cultivares, variedades y/o clones es el efecto de la interacción del genotipo con el ambiente (Estévez et al., 2000). Identificar una respuesta diferencial de los materiales evaluados a los distintos ambientes de cultivo permitirá evaluar los potenciales productivos y las posibles limitaciones de éstos en cada localidad (Mora *et al.*, 2007) establecer distintas alternativas de producción (Acciaresi y Chidichimo, 1999).

En el presente trabajo, además de poner en evidencia las diferencias existentes entre los distintos clones de orégano evaluados, el análisis de la varianza muestra que existen diferencias significativas entre las localidades de cultivo y que la interacción clon x localidad también es significativa.

Tanto a los 85 (Tabla 3.15) como a los 400 días de la siembra (Tabla 3.16) se observó que, en promedio, las plantas cultivadas en el Campo Escuela-FCA tuvieron menor longitud de rama que las cultivadas en La Consulta y en Potrero de Garay. Cuando la longitud de rama fue medida a los 85 días de la siembra, a excepción de los clones Me-Mza, Cd-Mza y Cr-Mza que no mostraron diferencias entre los ambientes, el resto de los clones se diferenciaron significativamente; mientras que a los 400 días de la siembra se observaron diferencias entre todos los clones, siendo las plantas cultivadas en La Consulta las de mayor longitud de rama.

En relación al rendimiento en peso fresco de la primera cosecha (Tabla 3.15), se observaron diferencias entre los ambientes, siendo las plantas cultivadas en el Campo Escuela-FCA las que tuvieron mayor peso fresco. Independientemente de la localidad de cultivo, los clones que se destacan por su rendimiento en biomasa son NB-TS, Ne-SJ, Cm-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA, cuya producción de biomasa fresca fue superior a la del resto de los clones en las tres localidades de cultivo (ver EO₁, EO₂ y EO₃). Es necesario destacar que los clones Me-TS y Me-Mza, que fueron los de menor rendimiento cuando se los cultivó en Potrero de Garay, no son genotipos adecuados para la producción en dicha localidad (ver EO₁, EO₂ y EO₃). La misma tendencia se observa en relación al peso seco, donde las plantas cultivadas en el Campo Escuela-FCA superaron significativamente el rendimiento en biomasa seca promedio observado en La

Consulta y en Potrero de Garay. Nuevamente los clones NB-TS, Ne-SJ, Cm-Mza, C₃-FCA y C₈-FCA se destacaron por su rendimiento en biomasa seca en las tres localidades de cultivo (ver EO₁, EO₂ y EO₃).

En cuanto al peso seco de las hojas y los tallos y a la relación hoja/tallo, también se observaron diferencias significativas entre las localidades de cultivo (Tabla 3.15), siendo las plantas cultivadas en el Campo Escuela-FCA las que en promedio mostraron mayores valores de peso seco de hojas y de tallos, mientras que la relación hoja/tallo fue mayor en las plantas evaluadas en La Consulta.

Cuando se evaluó el rendimiento de biomasa tanto fresca como seca, producida en la segunda cosecha, también se observaron diferencias entre los ambientes (Tabla 3.16), siendo las plantas cultivadas en La Consulta las que mostraron los mayores valores para ambas variables, mientras que no se observaron diferencias en el rendimiento de las plantas evaluadas en Potrero de Garay y el Campo Escuela-FCA. En esta cosecha, se observó que en La Consulta los clones de mayor producción de biomasa fresca y seca fueron C₃-FCA y C₈-FCA, mientras que en Potrero de Garay, además de C₃-FCA y C₈-FCA, se destacaron los clones Ne-SJ, NB-TS y Cm-Mza y en el Campo Escuela-FCA los de mayor rendimiento fueron Cd-Mza, Cr-Mza, C₂-FCA y NB-TS. Los clones Me-TS, Me-Mza y VL-TS resultaron los de menor rendimiento (tanto en peso fresco como seco) en las tres localidades, siendo el Campo Escuela-FCA el ambiente más desfavorable para VL-TS, mientras que Me-TS y Me-Mza registraron los rendimientos más bajos en Potrero de Garay (ver EO₁, EO₂ y EO₃).

En cuanto al porcentaje de agua que se pierde durante el proceso de secado, cuando éste fue medido en la primera cosecha se observaron diferencias entre las localidades (Tabla 3.15); mientras que en la segunda cosecha las mismas no discreparon para la variable (Tabla 3.16). Como era de esperar esta misma tendencia se observó en relación al contenido de fibra, tanto en la primera cosecha (Tabla 3.15) como en la segunda (Tabla 3.16).

Tabla 3.15 – Valores medios para las variables cuantitativas evaluadas en las tres localidades de cultivo.

Localidad	LRL ₁ (cm)	PF* (g pl ⁻¹)	PS* (g pl ⁻¹)	Agua* (%)	Fibra* (%)	PSH* (g pl ⁻¹)	PST* (g pl ⁻¹)	H/T*
LC-Mza	30.38b	72.17b	22.65b	68.26b	0.47c	16.66b	6.10a	3.04c
PG-Cba	33.10b	38.87a	17.00a	51.86a	0.32b	10.90a	6.23a	1.74a
CE-Cba	22.76a	171.51c	49.27c	71.40c	0.29a	32.47c	16.79b	2.40b

LRL₁: longitud de la rama más larga a los 85 días de la siembra; **PF**: Peso fresco; **PS**: Peso seco; **Agua**: contenido de agua; **Fibra**: contenido de fibra; **PSH**: peso seco de las hojas; **PST**: peso seco de los tallos; **H/T**: relación hoja/tallo (peso seco de hoja/peso seco de tallos); **LC-Mza**: La Consulta (Mendoza); **PG-Cba**: Potrero de Garay (Córdoba); **CE-Cba**: Campo Escuela FCA-UNC (Córdoba); * datos medidos en la primera cosecha. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Con respecto al contenido de aceites esenciales, se observaron diferencias significativas entre las tres localidades, siendo las plantas evaluadas en Potrero de Garay las que mostraron mayores valores promedio (Tabla 3.16). Independientemente de la localidad de cultivo, los clones Me-TS y Me-Mza son los de mayor rendimiento en aceites esenciales (ver EO₁, EO₂ y EO₃), esta información cobra importancia a la hora de decidir el destino de la producción de orégano, es decir si el orégano producido será utilizado como hierba seca o si será destinado a la producción de aceites esenciales.

Tabla 3.16 – Valores medios para las variables cuantitativas evaluadas en las tres localidades de cultivo, medidas en la segunda cosecha

Localidad	LRL ₂ (cm)	LE (cm)	Ramas (n° pl ⁻¹)	PF** (g pl ⁻¹)	PS** (g pl ⁻¹)	Agua** (%)	Fibra** (%)	AE (%)
LC-Mza	52.91c	2.06b	51a	342.71b	52.91c	60.85a	39.15a	1.17b
PG-Cba	32.61b	1.13a	107b	101.05a	32.61b	58.15a	41.85a	1.45c
CE-Cba	28.05a	1.07a	122c	99.36a	28.05a	57.40a	42.60a	0.93a

LRL₂: longitud de la rama más larga a los 400 días de la siembra; **LE**: longitud de entrenudos; **Ramas**: número de ramas planta⁻¹; **PF**: peso fresco segunda cosecha; **PS**: peso seco segunda cosecha; **Agua**: porcentaje de agua segunda cosecha; **Fibra**: porcentaje de fibra segunda cosecha; **LC-Mza**: La Consulta (Mendoza); **PG-Cba**: Potrero de Garay (Córdoba); **CE-Cba**: Campo Escuela FCA-UNC (Córdoba). ** datos medidos en la segunda cosecha Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Finalmente, en relación a los parámetros foliares medidos, también se observaron diferencias entre las tres localidades (Tabla 3.17). En función de las características foliares observadas, podemos decir que, en general, las plantas evaluadas en La Consulta tienen hojas más pequeñas y redondeadas que las evaluadas en Potrero de Garay y el Campo Escuela-FCA, mientras que las cultivadas en estas últimas localidades se caracterizaron en general por su mayor área foliar.

Tabla 3.17 – Valores promedio para los parámetros foliares evaluados en las tres localidades de cultivo.

Localidad	AF (cm²)	AH (cm)	LH (cm)	AH/LH
LC-Mza	0,49a	0,76a	1,03a	0,87b
PG-Cba	0,63b	0,86b	1,23b	0,79b
CE-Cba	0,63b	0,77a	1,20b	0,66a

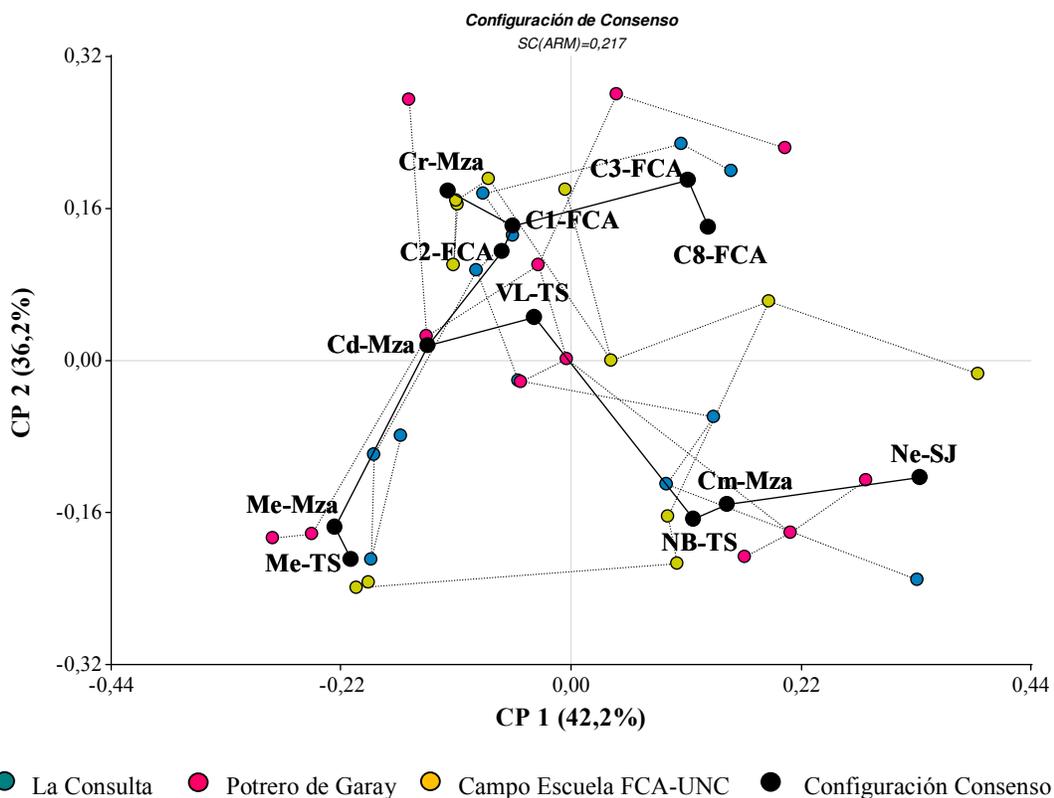
AF: área foliar; **AH:** ancho de hojas; **LH:** largo de hojas; **AH/LH:** relación ancho de hojas/largo de hojas; **LC-Mza:** La Consulta (Mendoza); **PG-Cba:** Potrero de Garay (Córdoba); **CE-Cba:** Campo Escuela FCA-UNC (Córdoba). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

En relación al Análisis de Procrustes Generalizado, combinando la información obtenida para caracteres cuantitativos en las tres localidades donde se llevaron a cabo los ensayos, los autovalores indican que con los dos primeros ejes se explica el 78,3% de la variabilidad contenida en el total de los caracteres. Del cociente entre el consenso y la suma de cuadrados total se concluye que existe un 74,3% de consenso entre el ordenamiento producido para los caracteres cuantitativos en cada una de las localidades de cultivo (La Consulta, Potrero de Garay y Campo Escuela FCA-UNC).

La Figura 3.22 muestra el consenso entre los ordenamientos dados por las componentes principales de los caracteres cuantitativos medidos en La Consulta, en Potrero de Garay y en el Campo Escuela FCA-UNC.

A partir del análisis de procrustes podemos decir que, independientemente de su comportamiento agronómico, los 12 clones de orégano evaluados tienden a agruparse de manera similar en las tres localidades donde se llevaron a cabo los ensayos. Pueden distinguirse con claridad cuatro grupos:

- Grupo 1: clones Me-TS y Me-Mza.
- Grupo 2: clones Cd-Mza, Cr-Mza, VL-TS, C₁-FCA y C₂-FCA.
- Grupo 3: clones C₈-FCA y C₃-FCA.
- Grupo 4: clones NB-TS, Ne-SJ y Cm-Mza.



C₁-FCA: clon 1 C₂-FCA: clon 2, C₃-FCA: clon 3, C₈-FCA: clon 8; Me-Mza: clon "Mendocino", Cm-Mza: clon "Compacto", Cd-Mza: clon "Cordobés", Cr-Mza: clon "Criollo", Me-TS: clon "Mendocino", NB-TS: clon "Negrito B", VL-TS: clon "Verde Limón", Ne-SJ: clon "Negrito"

Figura 3.22 – Ordenamiento de los 12 clones de orégano en el plano conformado por los dos primeros ejes de un APG con ARM, considerando caracteres cuantitativos evaluados en las tres localidades de cultivo.

A la luz de los resultados obtenidos, es necesario llevar a cabo ensayos que nos permitan determinar la magnitud de la interacción entre el genotipo y el ambiente permite evaluar la estabilidad de los cultivares en una gama de ambientes donde se desean introducir.

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL MATERIAL VEGETAL

La identificación taxonómica del material evaluado a campo se llevó a cabo utilizando las claves de Iestwaart (1980), Xifreda (1983) y Rouquaud y Videla (2001). De acuerdo con dichas claves, la clasificación de los distintos clones de orégano se basó

principalmente en características florales tales como la forma del cáliz, la longitud de las brácteas, la longitud de los filamentos estaminales y el color de brácteas y flores.

A partir de las observaciones realizadas, se determinó que 10 de los 12 clones de orégano evaluados pertenecen al género *Origanum*, secc. *Origanum* y dos de ellos son híbridos (Tabla 3.18):

Tabla 3.18 – Identificación taxonómica de los 12 clones de orégano evaluados

Clon	Nombre vulgar	Procedencia	Nº de herbario	Especie/Híbrido
Me-TS	Orégano “Mendocino”	Córdoba (Valle de Traslasierras)	Torres 0901 (CORD)	<i>Origanum x majoricum</i> Cambessedes
VL-TS	Orégano “Verde Limón”	Córdoba (Valle de Traslasierras)	Torres 0909 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (Link) Iestwaart
NB-TS	Orégano “Negrito”	Córdoba (Valle de Traslasierras)	Torres 0910 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>
Ne-SJ	Orégano “Negrito”	San Juan (Santa Lucía)	Torres 0911 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>
Me-Mza	Orégano “Mendocino”	Mendoza (La Consulta)	Torres 0902 (CORD)	<i>Origanum x majoricum</i> Cambessedes
Cm-Mza	Orégano “Compacto”	Mendoza (La Consulta)	Torres 0903 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>
Cd-Mza	Orégano “Cordobés”	Mendoza (La Consulta)	Torres 0905 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (Link) Iestwaart
Cr-Mza	Orégano “Criollo”	Mendoza (La Consulta)	Torres 0904 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (Link) Iestwaart
C ₁ -FCA	Orégano	Córdoba (FCA-UNC)	Torres 0912 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (Link) Iestwaart
C ₂ -FCA	Orégano “Criollo”	Córdoba (FCA-UNC)	Torres 0906 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (Link) Iestwaart
C ₃ -FCA	Orégano	Córdoba (FCA-UNC)	Torres 0907 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (Link) Iestwaart
C ₈ -FCA	Orégano	Córdoba (FCA-UNC)	Torres 0908 (CORD)	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (Link) Iestwaart

En nuestro país, Rouquaud y Videla (2000 y 2001) reportaron la existencia de “oréganos” pertenecientes a *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* y al híbrido *Origanum x*

majoricum, mientras que la subespecie *Origanum vulgare* ssp *hirtum* es reportada por primera vez en este trabajo.

Además de los taxones mencionados, se describieron como presentes en el país, ejemplares pertenecientes a las especies *Origanum dictamnus* y *Origanum vulgare* ssp. *viride* (Xifreda, 1983), *Origanum vulgare* ssp. *virens* (Rouquaud y Videla, 2000), *Origanum majorana* y el híbrido *Origanum x applii* (Xifreda, 1983; Rouquaud y Videla, 2000).

Dado que el “orégano” incluye un grupo de especies alógamas, la variabilidad genética dentro y entre las mismas es muy alta (Droushiotis and Della, 2002). La variabilidad observada entre clones pertenecientes a la misma especie puede atribuirse a la variabilidad genética originada por los procesos de recombinación inherentes a toda especie cuyos individuos se reproducen sexualmente (Sustar-Vozlic, 2002).

CONCLUSIONES

- Tanto las variables cuantitativas como cualitativas analizadas permitieron caracterizar los 12 clones de orégano en estudio. Aún cuando la evaluación se llevó a cabo en el primer ciclo del cultivo (plantas de 1 año), fue posible diferenciar los clones a partir de los caracteres medidos. Independientemente de la localidad de cultivo, los clones se agruparon de la misma manera y esos grupos coinciden con la determinación taxonómica de los mismos. Las diferencias observadas entre los clones pertenecientes a la misma especie, siendo plantas que se reproducen sexualmente (capaces de multiplicarse por semilla), son atribuibles a la variabilidad generada en el proceso de recombinación.

- Se determinó la existencia de interacción genotipo x ambiente: los distintos clones evaluados muestran rendimientos diferenciales dependiendo de la localidad de cultivo.

- A partir de la información obtenida será posible seleccionar los genotipos que mejor respondan a las distintas zonas de cultivo.

- Se logró identificar taxonómicamente los 12 clones evaluados, confirmando que dos de los clones corresponden al híbrido *Origanum x majoricum* Cambessedes, tres de los clones pertenecen a la especie *Origanum vulgare ssp vulgare* y los 7 clones restantes pertenecen a la especie *Origanum vulgare ssp hirtum* (Link) Iestwaart.

BIBLIOGRAFÍA

- Acciaresi, H. A. y H. O. Chidichimo. 1999. Interacción genotipo-ambiente en avena sativa I. Utilizando los modelos ammi y factorial de correspondencias. *Pesq. Agropec. Bras.* 34 (10): 1823-1830.
- Alderete J. M. y A. Janín. 2000. Cadenas Alimentarias: Orégano. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Dirección Nacional de Alimentos. Buenos Aires – Argentina. *Alimentos Argentinos* 15: 47-50.
- Amorin J. L. 1988. Guía Taxonómica con plantas de interés farmacéutico, Colegio oficial de farmacéuticos y bioquímicos de la Capital Federal, Bs. As.
- Baglio, C.; Bauzá, P.; Bastías, J.; Lineaux, F.; Locatelli, D.; Amadio, C y P. Tolocka. 2009a. Resultados red nacional de ensayos de orégano. Parcela La Consulta, San Carlos. XXXII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Latinoamericano de Floricultura Tropical. 23 – 26 de Septiembre de 2009, Salta – Argentina.
- Baglio, C.; Bauzá, P.; Bastías, J.; Lineaux, F.; Locatelli, D. y C. Amadio. 2009b. Efecto de diferentes formas de almacenamiento sobre la calidad de orégano. XXXII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Latinoamericano de Floricultura Tropical. 23 – 26 de Septiembre de 2009, Salta – Argentina.
- Barreyro, R.; Ringuelet, J. and S. Agrícola. 2005. Nitrogen fertilization and yield in oregano (*Origanum x applii*). *Cien. Inv. Agr.* 32 (1): 34-38.
- Cases Capdevila, M. A. 2007. Las plantas aromáticas y medicinales. Descripción de las especies fundamentales. Principios activos. Jornadas técnicas dedicadas a Plantas Aromáticas y Medicinales. Brihuega, Guadalajara, 18-20 de enero de 2007, pp 11-18.
- De Lope Nuevo, J. J. 2007. Proceso productivo de las plantas aromáticas y medicinales, técnicas de cultivo, recolección y destilación. Maquinaria específica. Nuevas tecnologías. Jornadas técnicas dedicadas a Plantas Aromáticas y Medicinales. Brihuega, Guadalajara, 18-20 de enero de 2007, pp 31-38.
- De Mastro, G. 1997. Crop domestication and variability within accessions of *Origanum* genus. In: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 34-48.
- Di Fabio, A. 2000. Perspectivas de producción de plantas aromáticas y medicinales en Latinoamérica. Conferencia. XXIII Congreso Argentino, X Latinoamericano III Iberoamericano de Horticultura. Mendoza - Argentina.
- Di Rienzo, J.; Guzmán, W.; y F. Casanoves. 2001. D.G.C., Test de Comparación de Medias. InfoStat Versión 1.1/Profesional. Grupo InfoStat. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Droushiotis, D. and A. Della. 2002. Genetic resources of medicinal and aromatic plants in Cyprus with emphasis on the selection, evaluation and management of *Origanum dubium*. In: Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. D. Baricevic, J. Bernáth, L. Maggioni and E. Lipman, compilers First Meeting, 12–14 September 2002, Gozd Martuljek, Slovenia. Pp 39-41
- Estévez, A.; Gonzalez, M. E.; Castillo, J. y U. Ortíz. 2000. Estudio de interacción genotipo-ambiente en clones cubanos de papa (*Solanum tuberosum*). *Cultivos Tropicales* 21 (2): 59-63
- Farías, G. y O. Brutti. 2009. Caracterización y evaluación de dos clones de orégano *Origanum x applii* (Domin) Boros en la provincia de Entre Ríos, Argentina.

- XXXII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Latinoamericano de Floricultura Tropical. 23 – 26 de Septiembre de 2009, Salta – Argentina.
- Fariás, G.; Brutti, O.; Grau, R.; Di Leo Lira, P.; Retta, D.; van Baren, C.; Vento, S. y A. L. Bandoni. 2010. Morphological, yielding and quality descriptors of four clones of *Origanum* spp. (Lamiaceae) from the Argentine Littoral region Germplasm bank. *Industrial Crops and Products* 32 (3): 472-480.
- Flórez Acosta, M. T. 2009. Perfil y características económicas y sociales de las empresas de plantas aromáticas y medicinales de puerto rico para el año 2007. Tesis de Maestría. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Puerto Rico, pp 134.
- Franz, C. y J. Novak. 1997. Breeding of *Origanum* species. In: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 49-56.
- Franz, C. y J. Novak. 2002. Part IV – Cultivation and Breeding: Breeding of Oregano. In: *Oregano: The genera Origanum and Lippia*. S. E. Kintzios (ed). Taylor & Francis, pp 163-174.
- Gonzáles, M. D.; Luis, C. y P. Lanzellotti. 2010. Estudio químico de *Origanum vulgare* ssp *viridulum*. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Internacional de la Frutilla, Simposio de Agroecología, Simposio de Aromáticas, Medicinales y Condimenticias. 28 de Septiembre – 1 de Octubre de 2010, Rosario, Santa Fe – Argentina.
- IDR (Fundación Instituto de Desarrollo Rural). 2009. Relevamiento Hortícola Invernal (Preliminar). Publicado en internet, disponible en: www.idr.org.ar (Activo septiembre de 2010)
- Ietswaart, J.H. 1980. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). Tesis Doctoral. Leiden Univ. Press. Pp 156.
- Infostat. 2009. Infostat versión 2009. Grupo Infostat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina
- Kokkini, S. 1997. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 2-12.
- La Voz, Suplemento Campo. 2009. La unión, una clave para agregar valor. Publicado en internet, disponible en: www.lavoz.com.ar (Activo septiembre de 2010)
- Leto, C. and A. Salamone. 1997. Bio-agronomical behaviour in Sicilian *Origanum* ecotypes. In: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 68-73.
- Lipinski, V. M.; Bauzá, P.; Baglio, C.; Vignoni, L.; Amadio, C.; Gaviola, S y J. F. Bastías. 2009. Efecto del riego por goteo sobre el rendimiento y la calidad del orégano. XXXII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Latinoamericano de Floricultura Tropical. 23 – 26 de Septiembre de 2009, Salta – Argentina.
- Lipinski, V. M.; Bauzá, P.; Baglio, C.; Vignoni, L.; Amadio, C.; Gaviola, S y J. F. Bastías. 2010. Rendimiento y calidad de orégano cultivado con riego por goteo. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Internacional de la Frutilla, Simposio de Agroecología, Simposio de Aromáticas, Medicinales y Condimenticias. 28 de Septiembre – 1 de Octubre de 2010, Rosario, Santa Fe – Argentina.

- Mora, F.; Pupim-Junior, O. and C.A. Scapim. 2007. Prediction of cultivar effects on cotton yield in the presence of genotype-environment interaction. *Cien. Inv. Agr.* 34(1):13-21.
- Moreno, R. C.; Mariconda, L. E.; Curzel, N. H.; Biéc, M. E. y E. Albizzatti. 2009. Secadero solar tipo invernadero para orégano en la Patagonia Norte. XXXII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Latinoamericano de Floricultura Tropical. 23 – 26 de Septiembre de 2009, Salta – Argentina.
- Moreno, R. C.; Mariconda, L. E.; Berzins, M. y E. Albizzatti. 2010. Secado solar de orégano en época otoñal en la Patagonia Norte. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Internacional de la Frutilla, Simposio de Agroecología, Simposio de Aromáticas, Medicinales y Condimenticias. 28 de Septiembre – 1 de Octubre de 2010, Rosario, Santa Fe – Argentina.
- Mariconda, L.; Bagolín, F.; Biéc, M.; Curzel, N. y R. Moreno. 2010. Evaluación de color y aroma de orégano deshidratado en secadero solar tipo invernadero en la Patagonia Norte. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Internacional de la Frutilla, Simposio de Agroecología, Simposio de Aromáticas, Medicinales y Condimenticias. 28 de Septiembre – 1 de Octubre de 2010, Rosario, Santa Fe – Argentina.
- Mirábile, M.; Peral, E.; Vignoni, L.; Bauzá, P. y C. Baglio. 2010. Diferentes formas de acondicionamiento de orégano fresco para su conservación. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Internacional de la Frutilla, Simposio de Agroecología, Simposio de Aromáticas, Medicinales y Condimenticias. 28 de Septiembre – 1 de Octubre de 2010, Rosario, Santa Fe – Argentina.
- Ojeda, M.; Palacio, L.; Karlin, M. y E. Biderbost. 2000 (a). Variabilidad de poblaciones de peperina en caracteres relacionados a la producción de plantines. En *Horticultura Argentina* vol: 19 N° 46.
- Ojeda, M.; R. Coirini y E. Biderbost. 2000 (b). Respuesta de diferentes poblaciones de peperina frente a condiciones de cultivo en secano y bajo riego. En *Horticultura Argentina* vol: 19 N° 46.
- Ojeda, M.; Coirini, R.; Cosiansi, J.; Zapata, R. Y J. Zygodlo. 2001. Evaluation of variability in natural populations of peperina [*Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb.], an aromatic specie from Argentina. *Plant Genetic Resources Newsletter*.126, 27- 30.
- Ojeda, M.; Borgogno, P.; Bled, L. y C. Liébana. 2004. Caracteres relacionados con la producción en poblaciones clonales de orégano (*Origanum* sp.). *Anales del XXVII Congreso Argentino de Horticultura*. San Luis - Argentina.
- Olmedo, R. H.; Nepote, V.; Mestrallet, M. G. and N. R. Grosso. 2008. Effect of the essential oil addition on the oxidative stability of fried-salted peanuts. *International Journal of Food Science and Technology* 43:1935-1944.
- Olmedo, R. H.; Asensio, C; Nepote, V.; Mestrallet, M. G. and N. R. Grosso. 2009. Chemical and Sensory Stability of Fried-Salted Peanuts Flavored with Oregano Essential Oil and Olive Oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89:2128-2136.
- Orell, R. e I. Martínez. 2010. Evaluación de cuatro tipos de orégano (*Origanum vulgare* L.) en Campo Demostrativo Encalilla – Valles Calchaquíes – Tucumán. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Internacional de la Frutilla, Simposio de Agroecología, Simposio de Aromáticas, Medicinales y

- Condimenticias. 28 de Septiembre – 1 de Octubre de 2010, Rosario, Santa Fe – Argentina.
- Palacio García - Nieto, L. 2000. Las plantas medicinales y aromáticas: una alternativa de futuro para el desarrollo rural. Boletín Económico de ICE N° 2652: 29 – 40.
- Potaschner, P. y P. Bauzá. 2009. Evaluación económica para cinco modelos de producción primaria de orégano en la provincia de Mendoza, utilizando cuatro variables críticas. Publicado en Internet, disponible en: www.idr.org.ar. Activo en septiembre de 2010.
- Ré, M. S.; Artiñano, E.; Henning, C.; Di Leo Lira, P.; Retta, D.; van Baren, C.; Bandoni, A. L. y J. Ringuélet. 2009. Caracterización de cuatro poblaciones de especies aromáticas como fuente de timol y carvacrol. XXXII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Latinoamericano de Floricultura Tropical. 23 – 26 de Septiembre de 2009, Salta – Argentina.
- Rouquaud E. y M. Videla. 2000. Oréganos de Mendoza (Argentina). Rev. Fac. Cs. Agrarias. 32 (2): 23 - 32.
- Rouquaud E. y M. Videla. 2001. Identificación de orégano mediante caracteres anatómicos foliares. Rev. FCA UNCuyo 33 (2): 97-104.
- Sari, A. O. and B. Oguz. 2002. Activities on medicinal and aromatic plants at the Aegean Agricultural Research Institute. In: Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. D. Baricevic, J. Bernáth, L. Maggioni and E. Lipman, compilers First Meeting, 12–14 September 2002, Gozd Martuljek, Slovenia. Pp 121-127
- Skoula, M. and S. Kamenopoulos. 1997. *Origanum dictamnus* L. and *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart: Traditional uses and production in Greece. In: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. S. Padulosi (ed.). CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, pp 26 – 32.
- Soldevila, V.; Martínez, M. C.; Valverde, J. M. y M. T. Pretel. 2006. Caracterización socioeconómica del agricultor de plantas aromáticas en Alicante. Vida Rural (1 de Noviembre de 2006): 68-71
- Sustar-Vozlic, J. 2002. Genetic variability of native populations of oregano in Slovenia. In: Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. D. Baricevic, J. Bernáth, L. Maggioni and E. Lipman, compilers First Meeting, 12–14 September 2002, Gozd Martuljek, Slovenia. Pp 147-149
- Torres, L. E.; Chaves, A. G.; Bustos, J. A.; Ocaño, S.; Brunetti, P.; Massuh, Y.; Castillo, N. y M. S. Ojeda. 2009a. Comportamiento agronómico de los clones de orégano “Compacto” y “Criollo” sembrados en dos ambientes diferentes. XXXII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Latinoamericano de Floricultura Tropical. 23 – 26 de Septiembre de 2009, Salta – Argentina.
- Torres, L. E.; Chaves, A. G.; Brunetti, P.; Bustos, J. A.; Massuh, Y.; Ocaño, S.; Castillo, N. y M. S. Ojeda. 2009b. Variabilidad fenotípica de cuatro clones de orégano cultivados en las localidades La Consulta (Mendoza) y Capilla de los Remedios (Córdoba). II Reunión de Biotecnología Aplicada a Plantas Medicinales y Aromáticas. 2 al 4 de Diciembre de 2009, Santa María de Punilla - Córdoba, Argentina.
- Torres, L. E.; Brunetti, P.; Ocaño, S.; Massuh, Y.; Chaves, A. G. y M. S. Ojeda. 2010. Variaciones en el contenido de aceites esenciales de orégano (*Origanum* sp) evaluados en tres localidades. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura, 1er Simposio Internacional de la Frutilla, Simposio de Agroecología, Simposio de

- Aromáticas, Medicinales y Condimenticias. 28 de Septiembre – 1 de Octubre de 2010, Rosario, Santa Fe – Argentina.
- Suárez, D. 2002. Orégano en el Valle de Traslasierras. Evaluación de 7 cultivares. Ediciones INTA - Proyecto Frutihortícola, Boletín N° 9 (Edición Especial): 3-4.
- Suárez, D y M. Ojeda. 2007. Ensayos de fertilización en orégano. Ediciones INTA - Proyecto Frutihortícola, Boletín N° 15: 5-8.
- Verlet N. 1996. Situación y perspectivas del comercio mundial de los productos aromáticos. Boletín Plantas Aromáticas N 7. Valoración económica del sector aromático. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP). Buenos Aires. pp: 4.
- Weglarz, Z. and A. Geszprych. 2002. The status of medicinal and aromatic plants in Poland In: Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. D. Baricevic, J. Bernáth, L. Maggioni and E. Lipman, compilers First Meeting, 12–14 September 2002, Gozd Martuljek, Slovenia. Pp 96-101
- Zunino M. P. and J. A. Zygodlo. 2004. Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize. *Planta* 219: 303-309.
- Zygodlo, J. A. y Juliani HR (Jr). 2000. Bioactivity of essential oil components. *Current Topics in Phytochemistry - Research Trends Review* vol.3 pp.203-214.
- Xifreda, C. 1983. Sobre oréganos cultivados en Argentina. *Kurtziana* 16: 133 - 148.

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES GENERALES

- 1) Si bien se observaron respuestas diferenciales de los distintos clones en cultivo *in vitro*, las condiciones probadas resultaron adecuadas para llevar a cabo la recuperación de meristemas de la mayoría de los genotipos en estudio. Sin embargo, es necesario ajustar estas condiciones con el fin de optimizar la respuesta de los clones, en particular de aquéllos más recalcitrantes al proceso de cultivo *in vitro*.
- 2) En ensayos previos correspondientes a la Red Nacional de Ensayos de Orégano, las plantas pertenecientes al clon Me-Mza, obtenidas por división de matas y sin sanear, no sobrevivieron al trasplante a campo en ninguna de las localidades donde se realizaron las experiencias. Aún cuando en el marco de esta tesis no se llevaron a cabo ensayos tendientes a comparar el comportamiento agronómico de plantas saneadas *in vitro* vs no saneadas, plantas de ese clon (Me-Mza) obtenidas por micropropagación de plantas madre saneadas lograron ser implantadas y evaluadas a campo. Esto sugiere que el saneamiento *in vitro* permite la recuperación del material que se encuentra debilitado por la presencia de patógenos sistémicos, acumulados a través de sucesivos ciclos de multiplicación por división de matas. Sin embargo es necesario llevar a cabo los análisis correspondientes para determinar la ausencia de patógenos, ya que los mismos pueden estar presentes en concentraciones muy bajas. Del mismo modo es necesario realizar un ensayo comparativo entre plantas saneadas *in vitro* vs plantas no saneadas.
- 3) Mediante la micropropagación *in vitro* de las plantas saneadas, se obtuvieron con éxito plántulas pertenecientes a 12 de los clones recolectados, las que fueron posteriormente sembradas en los ensayos a campo. En cuanto a la conservación *in vitro* de germoplasma, se logró establecer una colección constituida por los 12 clones evaluados a campo e identificados taxonómicamente a los que se suman 8 clones que serán evaluados en un futuro. Sin embargo es necesario ajustar

condiciones de humedad y temperatura con el fin de lograr la conservación a mediano y largo plazo de todos los clones.

- 4) Se lograron establecer tres ensayos comparativos con 12 de los clones de orégano saneados, en tres localidades situadas en la zona de producción del país: Camino a Capilla de los Remedios (Córdoba), Potrero de Garay (Córdoba) y La Consulta (Mendoza)
- 5) La evaluación de los distintos genotipos en cada una de esas localidades, puso de manifiesto el comportamiento diferencial de los clones dependiendo del ambiente de cultivo, y evidenció la interacción de los mismos con el ambiente.
- 6) A partir de los caracteres cuantitativos y cualitativos medidos fue posible establecer las diferencias entre los 12 clones evaluados. Independientemente de la localidad de cultivo, las variables cuantitativas con mayor valor discriminante fueron el rendimiento de aceites esenciales, la longitud de entrenudos, la longitud de la rama más larga (400 días), peso fresco (segunda cosecha), peso seco de hoja y de tallos, la relación hoja/tallo y el área foliar. En cuanto a las variables cualitativas, las de mayor valor discriminante fueron el color de hojas, color de tallos, color de brácteas, color de flor, porte de las plantas, momento de floración y longitud de la espiga. En función de las variables analizadas, los 12 clones de orégano pudieron ser clasificados en cuatro grupos.
- 7) Se llevó a cabo la identificación taxonómica de los 12 clones de orégano en estudio. A partir de las observaciones realizadas, se determinó que los clones evaluados pertenecen a tres taxones diferentes: *Origanum vulgare* ssp *vulgare*, *Origanum vulgare* ssp *hirtum* y *Origanum x majoricum* (híbrido). Dentro de cada uno de los cuatro grupos, discriminados en función caracteres cuantitativos y cualitativos, los clones pertenecen al mismo taxón.
- 8) La caracterización (en función de caracteres cuali y cuantitativos) y la identificación botánica de los distintos clones de orégano utilizados en cultivo

permitirán realizar tipificación de la producción por variedad comercial. De este modo, será posible planificar el desarrollo organizado y competitivo del cultivo de orégano, tendiendo a aumentar la calidad alimenticia y productividad del mismo en un marco de sustentabilidad ambiental e inclusión social de los diferentes actores de la cadena agroalimentaria. La puesta en práctica de los resultados de este trabajo promoverá el desarrollo de explotaciones locales generando un aumento de mano de obra, representando un gran avance para las economías regionales.

OBJETIVOS PARA FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

- 1) Evaluar a campo los clones de orégano que integran la colección de germoplasma *in vitro* y que no fueron objeto de estudio en el marco del presente trabajo.
- 2) Llevar a cabo ensayos comparativos de rendimiento con el fin de seleccionar los materiales superiores según calidad, producción y los más aptos para cada región en función de la interacción con el ambiente.
- 3) Llevar a cabo el estudio cuali y cuantitativo de los aceites esenciales de los distintos clones de orégano para determinar la presencia de quimiotipos o quimiodemos.
- 4) Evaluar la capacidad antioxidante de los aceites esenciales de los clones pertenecientes a la colección de germoplasma.
- 5) Evaluar en pruebas *in vitro* la capacidad antimicrobiana y el efecto insecticida de los aceites esenciales de los distintos clones de orégano.
- 6) Evaluar la diversidad genética de los clones de orégano mediante electroforesis de isoenzimas y marcadores moleculares.

- 7) Seleccionar los materiales superiores en función de la calidad de sus aceites esenciales y de su comportamiento agronómico para dar comienzo a un programa de mejoramiento genético del cultivo.
- 8) Continuar incorporando genotipos a la colección de germoplasma de orégano *in vitro*.
- 9) Llevar a cabo la inscripción de cultivares y/o variedades de orégano en el Instituto Nacional de Semillas (INASE)