

TRABAJO FINAL DE INTENSIFICACIÓN

**Producción orgánica de melisa (*Melissa officinalis*) con  
utilización de aguas residuales de la industria frigorífica  
en la localidad de Cabildo**



ALUMNO: **Calfuquir, Juan Manuel**

DOCENTE TUTOR: **Dr. Rodríguez, Roberto**

CONSEJEROS: **Dr. Espósito, Martín – Mag. Ayastuy, Miren Edurne**

ASESOR EXTERNO: **Ing. Agr. Belladonna, Damián**

Departamento de Agronomía



Universidad Nacional del Sur

Marzo 2020, Bahía Blanca

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer principalmente a mis padres, Eusebio y Nélide, por la educación y los valores que me inculcaron, como así también, el apoyo y el cariño para hoy poder tener mi título y culminar esta gran etapa en mi vida. A mi hermano Daniel que siempre estuvo acompañándome en este camino y compartiendo conmigo gran parte de los momentos vividos durante la vida universitaria.

También a mis amigos, que son hermanos que me dio la vida y me han acompañado y apoyado siempre de manera incondicional, tanto los de mi pueblo como los que conocí durante la etapa universitaria.

A mis primas/hermanas Cintia y Sofía por todo el cariño y el apoyo que siempre me brindan y a toda la familia que siempre estuvo de alguna u otra manera. Quiero agradecer y dedicar este título especialmente a mi tío Pedro, que, aunque ya no está físicamente siempre me alentó y me inculco valores y enseñanzas que siempre voy a llevar conmigo.

A la Universidad Nacional Del Sur y en especial al Departamento de Agronomía

Al Dr. Roberto Rodríguez por ser el tutor de esta tesina, por su buena disposición y cordialidad.

A la Dra Edurne Ayastuy por ser consejera de la tesina, por brindarme su tiempo y conocimientos para concretar esta tesina, además de su buena disposición y atención.

Al Dr. Martín Esposito por ser consejero de la tesina, brindar su tiempo, conocimiento, buena atención y también haberme dado un lugar para realizar este trabajo de manera más cómoda y aplicada.

Al Ing. Agrónomo Damián Belladonna por ser asesor y brindarme conocimientos en estos últimos años, también por su buena predisposición en todas las labores para que esta tesis se lleve a cabo.

A la gente del Frigorífico Cabildo de la Cooperativa Obrera, por la buena atención durante las visitas en el transcurso del ensayo y al operario encargado del predio donde se realizó el ensayo por el cuidado del cultivo y su buena disponibilidad.

A todas esas personas que de manera directa o indirecta me ayudaron, enseñaron y formaron para que hoy haya llegado hasta acá.

# ÍNDICE

<b>Resumen.....</b>	<b>1</b>
<b>Introducción.....</b>	<b>2</b>
Plantas aromáticas y medicinales.....	2
Situación actual del cultivo de plantas aromáticas y medicinales en Argentina.....	2
Origen y Características botánicas de la melisa.....	3
Usos y Propiedades.....	5
Composición química.....	5
Datos técnicos del cultivo de melisa.....	7
Iniciación del cultivo.....	7
Requerimientos edáficos y climáticos.....	7
Establecimiento y duración del cultivo.....	7
Mantenimiento del cultivo.....	7
Cosecha y Secado.....	8
Comercialización.....	9
Destilación de plantas aromáticas.....	9
Tratamiento de agua residuales en Argentina.....	10
Tratamiento de efluentes líquidos en el frigorífico Cabildo.....	11
<b>Objetivos.....</b>	<b>14</b>
<b>Materiales y Métodos.....</b>	<b>15</b>
Localización.....	15
Características e Historia del predio.....	15
Tratamiento y diseño experimental.....	16
Muestreo.....	16
Necesidad hídrica del cultivo de melisa.....	18
Análisis estadístico.....	19
Análisis económico.....	19
<b>Resultados y Discusiones.....</b>	<b>20</b>
Resultado del análisis del agua del riego utilizada en la parcela.....	20
Resultado del análisis de suelo en la parcela.....	21

Desarrollo fenológico y morfológico del cultivo durante el ensayo.....	21
Estimación de las necesidades hídricas del cultivo.....	23
Rendimiento del cultivo a cosecha.....	25
Caracterización del aceite esencial.....	26
Resultados del Análisis económico.....	28
<b>Conclusiones.....</b>	<b>31</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>32</b>

#### LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1. <i>Melissa officinalis</i> L., Koehle (1887).....</b>	<b>4</b>
<b>Figura 2. Planta en estado vegetativo.....</b>	<b>4</b>
<b>Figura 3. Planta en estado de floración.....</b>	<b>5</b>
<b>Figura 4. Laguna n° 1 anaeróbica.....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 5. Laguna n° 2 facultativa.....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 6. Laguna n° 3 aeróbica y receptora.....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 7. Vista satelital del predio y de la parcela de experimentación.....</b>	<b>15</b>
<b>Figura 8. Esquema de los bloques para los diferentes tratamientos.....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 9. Destilador de vapor en agronomía UNS.....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 10. Cultivo al final de temporada.....</b>	<b>22</b>
<b>Figura 11. Coloración rojiza en las hojas de melisa.....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 12. Curva de Kc correspondiente al cultivo de melisa.....</b>	<b>24</b>

#### LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1. Principales constituyentes del aceite esencial .....</b>	<b>6</b>
<b>Tabla 2. Resultado del análisis de agua de riego.....</b>	<b>20</b>
<b>Tabla 3. Resultado del análisis de suelo.....</b>	<b>21</b>
<b>Tabla 4. Efecto de los tratamientos de fertilización sobre variables de crecimiento.....</b>	<b>22</b>
<b>Tabla 5. Valores obtenidos del CROPWAT 8.0 para estimación de necesidades hídricas.....</b>	<b>25</b>
<b>Tabla 6. Efecto de los tratamientos de fertilización sobre las biomásas fresca y seca.....</b>	<b>25</b>
<b>Tabla 7. Composición del aceite esencial sin fertilización (Testigo).....</b>	<b>26</b>

<b>Tabla 8. Composición del aceite esencial en las plantas fertilizadas con Urea.....</b>	<b>26</b>
<b>Tabla 9 Composición del aceite esencial en las plantas fertilizadas con Biorganutsa.....</b>	<b>27</b>
<b>Tabla 10. Costos de riego.....</b>	<b>28</b>
<b>Tabla 11. Costos de preparación del terreno.....</b>	<b>28</b>
<b>Tabla 12. Costos de plantacion.....</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 13. Costos del mantenimiento del cultivo.....</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 14. Costos cosecha.....</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 15. Costos de post-cosecha.....</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 16. Margen Bruto de la producción de melisa.....</b>	<b>30</b>

## Resumen

Las plantas aromáticas y medicinales representan un gran y diverso grupo de especies botánicas, cada una de ellas con unas características biológicas propias y una adaptación diferenciada a las condiciones de clima y suelo. En los últimos años el comercio mundial, como así también la demanda de los cultivos aromáticos ha mostrado un crecimiento sostenido, resultado de interacciones entre factores agronómicos, industriales, ecológicos, económicos y sociales; generándose así, nuevas alternativas en cuanto a producción y comercialización de productos y subproductos diferenciados con vistas favorables al futuro. Dentro de este grupo se encuentra la melisa (*Melissa officinalis*), una planta aromática con propiedades medicinales que la hacen muy interesante y valiosa dentro de este rubro. En Argentina, debido al acaparamiento de otras hierbas aromáticas en el mercado y el desconocimiento de sus cualidades, la producción de este cultivo no está muy promovida y solo se encuentran producciones aisladas. En este ensayo se evaluó la respuesta de la producción orgánica del cultivo de melisa en las condiciones agroecológicas de la localidad de Cabildo, utilizando agua de riego proveniente del tratamiento de residuales de la industria frigorífica, analizando parámetros fenológicos, morfológicos, productivos y económicos. Para dicho ensayo el cultivo fue sometido a tres tratamientos, uno con enmienda orgánica (Biorganutsa), otro con un fertilizante químico (Urea) y el tercero no tuvo ningún tipo de fertilización (Testigo). En las condiciones climáticas imperantes de la zona de Cabildo el cultivo tuvo una buena adaptación al suelo, como así también al agua, la cual, a pesar de ser reciclada, mostró una muy buena aptitud para el riego, es así que, los resultados obtenidos muestran valores de producción satisfactorios, buen estado sanitario y una calidad aceptable del producto obtenido. A cosecha, las plantas que no fueron fertilizadas presentaron un buen comportamiento al igual que las enmendadas en forma orgánica, y teniendo en cuenta los costos que implica la fertilización inorgánica, se podría cultivar melisa sin la aplicación de fertilizantes sintéticos. El estudio económico arrojó que los costos directos que provienen de la superficie de las instalaciones que se necesita para secar el material podrían disminuir si se construye un invernadero de menores dimensiones y se realiza varios cortes del cultivo, respetando el tiempo de permanencia a campo sin comprometer la calidad del producto final, e ir secando el material por turnos sucesivos. Teniendo en cuenta todo lo abordado en este trabajo, sería interesante estudiar más a fondo este cultivo en la región como una alternativa promisoriosa de producción de especies aromáticas y medicinales en la zona.

# Introducción

La historia del hombre está estrechamente ligada con las plantas aromáticas y medicinales, antes de descubrir el fuego y domesticar animales su subsistencia dependía en gran parte de las hierbas, los frutos, la miel y el jugo que extraía de las plantas. En el periodo neolítico, el hombre se vuelve sedentario y aparece la agricultura, se comienzan a cultivar plantas como el hinojo y el cilantro, utilizadas como condimentos. También inicia la fermentación de ciertos cereales con ayuda de semillas aromáticas como el comino y el anís, se intenta realzar el sabor con el uso de hierbas aromáticas y comienzan a descubrirse nuevas propiedades. El siglo XVII con el descubrimiento de nuevas especies, marcó el apogeo de las plantas medicinales y aromáticas, que hasta entonces se habían empleado de manera limitada en la medicina (Fretes, 2010)

Las plantas aromáticas y medicinales (PAM) son aquellas especies vegetales que tienen la capacidad de elaborar metabolitos secundarios “principios activos”, que pueden ser nocivos o beneficiosos para la salud. Dentro de este grupo, las plantas estrictamente aromáticas son aquellas cuyos principios activos son compuestos volátiles (aceites esenciales) que les confieren el aroma que las caracteriza, esta propiedad organoléptica le concede a las comidas y a las bebidas aromas, colores y sabores diferentes que las hacen más apetitosas, sabrosas y más gratas al olfato, a la vista y al paladar; convirtiéndolas en insumos relevantes para la industria alimentaria y licorera. El valor de las PAM debe ser ponderado desde diferentes criterios, su valor intrínseco como planta, su capacidad de producir metabolitos secundarios tanto en cantidad como calidad, su posible aprovechamiento en las industrias alimentaria y farmacéutica, su participación en sistemas de producción agroecológicos aportando biodiversidad y previniendo ataques de plagas y enfermedades. En consecuencia, estas especies vegetales tienen importancia biológica y económica, a lo que se le suma su importancia social por los saberes ancestrales y por ser parte del medio de subsistencia de muchas familias (Paunero *et al.*, 2016).

En nuestro país las plantas aromáticas y medicinales se cultivan en distintas regiones. En el NOA se encuentran cultivos de comino, anís y pimienta para pimentón; en la región pampeana, es donde se cultivan las principales especies de exportación, la manzanilla y el coriandro, además del perejil deshidratado; la región de Cuyo y la zona serrana de la provincia de Córdoba se cultivan principalmente orégano, mentas, romero; y en la región patagónica pedemontana el cultivo del lúpulo es el principal representante. Finalmente, el NEA, con los cultivos de citronela y otros. Todas estas regiones productoras promedian las 18000 ha de aromáticas cultivadas anualmente por aproximadamente 3.000 pequeños productores (Paunero, 2017).

La participación de Argentina en los mercados externos es inferior al 0,5 % tanto del mercado mundial de exportaciones como de importaciones. En el último decenio el volumen de exportación del sector creció en forma sostenida, alcanzando en el 2016 las 10.962 toneladas por un valor de 12 millones de dólares, representados principalmente por

la manzanilla y el coriandro como los principalmente productos comercializados. Sin embargo, hay muchas especies importadas que Argentina podría producir y exportar, si se mejorara la competitividad (Paunero, 2017).

La producción de materia prima a nivel nacional es de excelente calidad, sin embargo, es muy difícil competir en el mercado internacional, por los altos costos de los fletes, vinculados a las extensas distancias desde las zonas productoras a los puertos; la alta incidencia de la mano de obra en los costos de producción con respecto a otros países competidores y la pérdida de superficie cultivable consecuencia del clima, de la contaminación con agroquímicos como 2, 4 D y Glifosato como así también de malezas invasoras. En nuestro país, una forma de mejorar la competitividad es la diferenciación y el valor agregado de la producción, (un ejemplo es la producción de coriandro libre de gluten por contaminación del trigo). Además, en Argentina, existen muchas especies nativas y medicinales que no han sido completamente estudiadas desde los aspectos morfológicos, químicos, ni genéticos, así como tampoco está ajustado su manejo agronómico (Paunero, 2017).

## **Especie aromática bajo estudio**

### **Melisa (*Melissa officinalis*)**

#### ***Origen y Características botánicas***

La planta es vulgarmente conocida como melisa, bálsamo de limón, citronela o toronjil y pertenece a la familia Lamiáceas. Crece de forma natural en los bosques caducifolios y praderas de zona húmeda. Es originaria de la región mediterránea oriental y extendida por cultivo desde muy antiguo y naturalizada en regiones templadas de Europa (Renobales y Sallés, 2001).

El género cuenta con dos subespecies: *Melissa officinalis* ssp. *altissima* y *Melissa officinalis* ssp. *officinalis*. Estas dos subespecies se diferencian fundamentalmente atendiendo al indumento, el tipo de hoja, la morfología del cáliz y la cantidad de esencia que contienen sus hojas. Así, la subespecie *altissima* presenta un indumento denso, con hojas caulinares y basales truncadas o subcordadas en la base, grisáceas o blanquecino-tomentosas debido al indumento y con un suave olor a limón, y diente medio del labio superior del cáliz inconspicuo, truncado o emarginado. Por el contrario, la subespecie *officinalis* se caracteriza por presentar un indumento glabrescente o puberulento-glanduloso, con hojas caulinares y basales cuneadas en la base y un intenso y agradable olor a limón, y diente medio del labio superior del cáliz conspicuo y anchamente triangular (Figura 1) (Mosquero, 2001).

Se trata de una especie herbácea perenne de unos 80 cm de altura con tallos cuadrangulares, erectos y anuales. Las hojas son opuestas, de color verde oscuro en su cara superior y por el envés algo más pálidos, claramente pecioladas y con el limbo oval y dentado (Figura 2). Las flores son de color blanco-rosado, de aproximadamente 1 cm y se reúnen en inflorescencias en la axila de las hojas (Figura 3). Los frutos son aquenios largos,





**Figura 3.** Planta en estado de floración

### ***Usos y propiedades***

La planta está muy difundida en el campo de la medicina y la farmacia, su uso está aprobado por la Comisión Revisora de Productos Farmacéuticos principalmente por sus propiedades carminativas, sedantes, estimulantes y antiespasmódicas, es por esto que sus hojas, tallos y flores son usados para tratar estados depresivos y nerviosos, insomnio, dolor de cabeza, trastornos de la menopausia y afecciones cardíacas; además es considerada de utilidad en malestares estomacales y en problemas respiratorios (tos y bronquitis). Estudios en laboratorio y sobre animales de experimentación han mostrado para la melisa propiedades antivirales y antibacterianas. También se ha probado su actividad antiespasmódica, antiinflamatoria, antioxidante y antiulcerosa. (Suárez Cruz, 2007).

En el sector culinario es empleada para aromatizar vinagres de hierbas, salsas, vinos y también es usada para la fabricación de licores (Chartreuse, Benedictine, Herbes de Mallorca, etc.), además, sus hojas frescas se pueden utilizar para aromatizar ensaladas, sopas, salsas, postres y confituras. Por sus propiedades aromáticas, el aceite esencial extraído de las sumidades con flores es valorado en la industria cosmética para la producción de jabones, cosméticos y lociones; además es considerada una muy buena planta melífera (Ministerio de salud de Chile, 2010).

### ***Composición química***

*Melissa officinalis* es una planta medicinal muy estudiada para la que se describen como principales compuestos los ácidos hydroxycinámicos (rosmarinico, p-coumarico, clorogénico) y los aceites esenciales, donde los mayores constituyentes son los terpenoides como el citral (mezcla de los isómeros neral y geranial); alcoholes como el globulol,

geraniol, thymol y además, de beta- caryophyllene, etc. que componen el 88% de los componentes del aceite (Tabla 1) (Sánchez Govín *et al.*, 2010; Moradkhani *et al.*, 2010). Otros compuestos de interés presentes en esta especie son flavonoides y taninos (Acevedo *et al.*, 2013).

**Tabla 1.** Principales constituyentes del aceite esencial (Fuente: Moradkhani *et al.*, 2010)

Componentes	% de la masa
Beta-ocimene Z	0,2
Beta-ocimene E	0,1
Citronelal	0,01
Neral	43,8
Geraniol	5,3
Geranial	5,2
Thymol	7,9
Carvacrol	0,8
Citronellyl formate	0,2
Geranyl acetate	2,3
Germacrene D	0,3
Beta- caryophyllene	13,5
Alpha-humulene	0,7
Caryophyllene oxide	0,3
Globulol	6,8
Humulene epoxide	0,3
5-cedranone	0,2

## **Manejo del cultivo de *Melisa officinalis***

### ***Iniciación del cultivo***

Siembra de asiento en el campo, en cuyo caso se deberá preparar bien el suelo. El mejor resultado se obtiene iniciándola en almácigos e invernáculos, donde se puede manejar con ventaja la semilla que es pequeña. El almacigo se prepara esmeradamente, pudiendo tener dimensiones comunes y relacionándolo en extensión, al número de plantas a producir para la plantación definitiva. Cuando las plantitas hayan alcanzado una altura de 15-20 cm se procederá a trasplantarlas al sitio definitivo. Si el almacigo no es muy denso y la época de trasplante no resulta favorable, como en el caso de los almácigos de siembra otoñal, podrán permanecer más tiempo en los criaderos (Dobrecky, 2012).

El otro método es por propagación asexual ya sea por división de matas (cuando la planta está en estado vegetativo) o por esquejes (de otoño); estos métodos de multiplicación asexual tienen poca utilización debido al alto costo de mano de obra que requieren (Fanlo *et al.*, 2009).

### ***Requerimientos edáficos y climáticos***

El cultivo prefiere los suelos profundos y fértiles, bien drenados con un rango de pH de 5 a 7 y con buen contenido de materia orgánica, es importante que estos suelos tengan buena exposición al sol. Resistente al frío, aunque las heladas pueden disminuir su producción. Es sensible a la sequía durante su establecimiento, sin embargo, una vez que desarrolla la raíz su requisito de agua disminuye y por tal motivo se desarrolla mejor en condiciones bajo riego (Davis, 1988).

### ***Establecimiento y duración del cultivo***

La plantación se hace en primavera u otoño con plantines, normalmente procedente de semilla, la densidad óptima de plantación es de 30.000 a 40.000 plantas ha<sup>-1</sup> y las distancias entre plantas más habituales se encuentran entre 40 a 60 cm. El cultivo puede tener una duración de 4 a 5 años, a partir de los cuales el rendimiento suele disminuir (Fanlo *et al.*, 2009).

### ***Mantenimiento del cultivo***

-Riego: es una planta que requiere una pluviometría mínima de 550-600 mm anuales. Es por esto que necesita de riego continuo, o como mínimo un riego complementario de 300 mm en las épocas más secas. Es recomendable que sea por sistema de goteo para lograr una mayor eficiencia y mejor aprovechamiento del agua.

-Fertilización: las necesidades anuales para este cultivo son las siguientes (ITEIPMAI, 1992):

Nitrógeno:

-Primer año: 60 kg ha<sup>-1</sup>

-Segundo año: 80 kg ha<sup>-1</sup> en primavera; 60 kg ha<sup>-1</sup> después de la primera cosecha.

Fósforo: 100-120 kg ha<sup>-1</sup>.

Potasio: 120-150 kg ha<sup>-1</sup>.

Estas cantidades son orientativas y finalmente dependerán del nivel de fertilidad del suelo.

-Control de malezas: Se recomienda un control mecánico entre las filas, dentro de las mismas se puede realizar un control de forma manual o utilizar algún sistema de acolchado (plástico, corteza, paja etc.). Si se optara por un control químico, hay que tener en cuenta que la melisa es muy sensible a los herbicidas, por lo que es imprescindible respetar las condiciones y dosis recomendadas (Fanlo *et al.*, 2009)

-Control de plagas y enfermedades: Las principales plagas que pueden atacar este cultivo son la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*), que succiona la savia de las hojas de la planta y excreta una sustancia azucarada que puede servir como medio de crecimiento de hongos. También pueden aparecer ácaros (*Tetranychus sp*) que comienzan a alimentarse de la parte inferior de la planta y luego pasan a la parte superior produciendo necrosis y caída de hojas. Otra plaga es el trips de la flor (*Frankliniella occidentalis*) que succiona savia y producen el típico bronceado y caída en las hojas, además pueden actuar como vectores de enfermedades virales. Todas estas plagas se pueden controlar rociando Malathion 50 EC que se encuentra autorizado por SENASA para su utilización en aromáticas.

En el cultivo podemos encontrar enfermedades, como el mildiu polvoriento (*Sphaerotheca fuliginea*), que aparece como una capa de polvo blanco a gris sobre la superficie de las hojas u otras partes de la planta, se puede combatir aplicando azufre humectable o Dinocap (autorizado por SENASA) en dosis de 20 a 25 g cada 10 l de agua. También, las raíces pueden ser afectadas por *Fusarium sp.* y *Pseudomonas sp* (Bacteriosis) para estas hay que tomar medidas preventivas como contar con un buen material de iniciación del cultivo y evitar los encharcamientos (Restrepo y Alarcón, 2011).

### ***Cosecha y secado***

En el primer año de cultivo puede hacerse una sola cosecha. A partir del segundo año, pueden hacerse dos o tres anualmente, según la zona y las condiciones del cultivo. Si la planta se destina a hierba seca, la cosecha debe hacerse antes de la floración, los mayores rendimientos de hoja seca se obtienen con el corte de primavera y cuando se quiere llegar a buenos rendimientos del aceite esencial conviene efectuarlo en verano. La melisa es una especie con alto contenido de humedad (70-75%) y muy sensible al ennegrecimiento de las hojas si no se efectúa el secado correctamente, es así que, para evitar pérdidas de calidad se aconseja que los procesos de manipulación y secado sean rápidos y empleando mucho flujo de aire (Fanlo *et al.*, 2009).

## **Comercialización**

Se comercializa la hoja seca entera (para infusión, en bolsitas filtro, bolsas o cajas de cartón) o pulverizada (formando parte de comprimidos, cápsulas o elixires) para usos farmacológicos. También se comercializa el extracto (compuestos fluidos en dosificadores de gotas, grageas, comprimidos, cápsulas o infusiones instantáneas) y como aceite esencial. Como alimento, se acondiciona como hierba fresca en manojos (en bolsas o bandejas de plástico) y como hoja seca (en infusiones alimenticias) (Fanlo *et al.*, 2009).

## **Destilación de plantas aromáticas**

La destilación de plantas aromáticas consiste en arrastrar o separar, por medio de vapor de agua, los aceites esenciales, que contienen las partes de la planta sometidas a este proceso. Estos aceites pueden estar localizados en las hojas, raíces, corteza, flores, cáscara el fruto o semillas. Esta técnica se basa en la diferente volatilidad de los componentes del material vegetal, lo cual permite la separación de compuestos volátiles de otros que son menos o nada volátiles. Este tipo de destilación facilita la extracción de principios activos volátiles y permite obtener las esencias de las plantas aromáticas, aunque es aplicable solamente a sustancias termoestables. La composición de los aceites esenciales es muy compleja, por lo general son mezclas de distintos compuestos que poseen características similares (Bucciarelli *et al.*, 2014).

Los aceites esenciales son usados en la medicina principalmente en el campo de la aromaterapia como agentes carminativos, estimulantes, diuréticos, antirreumáticos, anticancerígenos, antiinflamatorios, anti convulsionantes, además de antidepresivos y antiansiolíticos. Algunos poseen propiedades insecticidas, antifúngicas y antibacterianas frente a microorganismos patógenos y han sido considerados como ingredientes activos en algunos plaguicidas botánicos; en el sector de la industria alimenticia son utilizados como condimentos, saborizantes y aromatizantes tanto para comidas y bebidas; en la industria de la cosmética se emplean para la fabricación de productos como perfumes, cremas, cosméticos y jabones (Ali *et al.*, 2015).

La extracción del aceite esencial de melisa se logra mediante el sistema de arrastre con vapor y destilación. Para esto se utiliza un equipo especial compuesto por una caldera o emisor de vapor, un contenedor donde se deposita el material a destilar, unos tubos que inyectan el vapor proveniente de la caldera, un condensador o intercambiador donde se condensa la mezcla de aceite esencial y agua que luego de un tiempo se separaran por diferencias de densidades para finalmente poder aislar el aceite haciéndolo pasar por un embudo provisto de un grifo en la parte más estrecha. Dicho aceite tiene un característico y agradable olor a limón, un color ligeramente amarillento y su viscosidad es más ligera que la del agua. El rendimiento de la extracción y la composición química del aceite esencial de *M. officinalis* L., depende del microambiente en el cual crece la planta y del periodo en el cual son cosechadas las hojas (Saeb y Gholamrezaee, 2012).

## **Tratamientos de aguas residuales en Argentina**

A nivel mundial, debido al aumento de la superficie cultivable y la mayor demanda de recursos hídricos, resulta necesario pensar en alternativas que permitan obtener agua de fuentes no convencionales, como es la reutilización de aguas residuales que resultan de distintos procesos industriales, esta regeneración consiste en devolverle, parcial o totalmente, el nivel de calidad que tenía antes de ser utilizada y de esa manera darle un nuevo aprovechamiento y a la vez deshacerse de los residuos del agua que pueden presentarse como potenciales problemas para la salud y sobre todo para el medio ambiente (FAO, 1992).

Actualmente, dentro de la agricultura, el empleo de aguas residuales es una opción que comienza a tomar importancia en diversos lugares como una respuesta alternativa frente al creciente déficit hídrico, como así también, a la competencia entre las zonas urbanas y periurbanas por el agua dulce. Debido a que el 70 % de las extracciones de agua dulce se realiza con fines agrícolas, pensar en el aprovechamiento de aguas residuales para el riego de cultivos, de manera segura, aliviaría en parte esta presión sobre los recursos hídricos. Se estima que, a nivel mundial, 20 millones de hectáreas (7% de las tierras de regadío) se abastecen de aguas residuales tratadas o parcialmente tratadas (UN-Water, 2013).

Además de los factores climáticos y el uso irracional del agua, otra de las causas que están provocando déficit hídrico en el mundo, es la contaminación de las aguas superficiales y de los acuíferos por medio de diferentes fuentes, provocando así, una reducción en la cantidad de agua segura para el consumo, una de estas fuentes se genera por el manejo irresponsable de las aguas servidas. En la medida que se busca evitar estos problemas medioambientales y de salud, se propone a las aguas residuales como parte de la solución en lugar del problema, ya que su reutilización puede generar un valor agregado para los usuarios urbanos, los agricultores y el medio ambiente (PROSAP-UTF, 2014)

En nuestro país la existencia de las plantas de tratamiento de aguas residuales no está muy extendida, ya que solo el 35% de las aguas se tratan, el resto se vierten a ríos y mares. Otro factor importante es la heterogeneidad en la distribución de los recursos hídricos, el 85% de estos se encuentra en la Cuenca del Plata, que es el 30 % de la superficie nacional, y el 75% del país corresponde a zonas áridas y semiáridas. En relación al tratamiento de aguas residuales, la OPS estimo en 1999 que en el país solo se procesaba aproximadamente un 12 % del total de los líquidos colectados. En 2011 según Aquastat, el porcentaje de tratamiento se elevaba a 35% (PROSAP-UTF, 2014).

En el Rio de la Plata, como caso específico, fluyen diariamente alrededor de 2.300.000m<sup>3</sup> o 0.8 km<sup>3</sup> al año de aguas residuales sin tratar, según estimaciones de “aguas argentinas”. Un porcentaje muy bajo de estas aguas (10%) son tratadas, por lo que crea problemas de salubridad entre la población, ya que el agua que se consume viene de estos cuerpos. Es por ello que se hace patente la necesidad de una mejor gestión de los recursos hídricos, y una buena opción es desviar las aguas residuales de los cuerpos de agua, enviándola a otros usos, como la agricultura (PROSAP-UTF, 2014).

Argentina no tiene un marco legal que establezca las condiciones mínimas requeridas así como las políticas de promoción para el desarrollo de esta actividad; sin embargo, existen experiencias aisladas de reutilización de aguas residuales con diferentes grados de consolidación, especialmente en actividades de carácter productivo; a excepción de la provincia de Mendoza, que cuenta con una arquitectura institucional y jurídica compleja en materia de gestión de agua y utilización de las aguas residuales, que debiera convertirse en antecedente valioso para definir los criterios esenciales de una ley a nivel nacional (Bertranou y Araujo, 2002).

### **Tratamiento de efluentes líquidos en el Frigorífico Cabildo**

El tratamiento de fluentes líquidos industriales generados en el Frigorífico Cabildo, es producto del cocido de ciertos cortes de carne vacuna y el lavado diario de accesorios e instalaciones en general. A estas últimas solo se incorporan como aditivos productos detergentes y desengrasantes formulados para la industria alimenticia y autorizados por SENASA. Se trata de los productos Sutterfood 230, identificado como detergente cloro activo desengrasante, con una biodegradabilidad del 90% y compuesto por hidróxido de sodio (5 al 10%), hipoclorito de sodio (15 al 20%), sal alcalina (1 al 5%), tensioactivos y detergente para superficies duras y de Sutterfood 120, identificado como detergente desengrasante con 90% de biodegradabilidad y compuesto por una base alcalina (8 al 15%), tensioactivos no iónicos (15 al 30%) y fosfanatos/poliacrinatos (hasta un 5%), ambos de Sutter Argentina S.A. El tratamiento de los efluentes lo podemos dividir en 3 secciones:

#### ***1-Tratamiento Físico***

Consiste en eliminar las partículas más pesadas. El primer paso para los líquidos es una cámara de rejillas, las cuales retienen los trozos de mayor tamaño (pedazos de carne, grasa y huesos), los restos retenidos, son retirados manualmente y transportados al sector de grasas y huesos. Desde este punto se pasa a un decantador interceptor, en el cual, por medio de tabiques, se retienen las partículas por flotación y decantación, luego se retiran las partículas decantadas y se disponen para su transporte por un operador especializado y autorizado por el OPDS y el municipio local, hasta el lugar de disposición final.

#### ***2-Tratamiento Biológico***

El efluente es bombeado a una laguna anaeróbica de unos 55 m<sup>2</sup> (Figura 4), provista con aireador y recirculador, de allí pasa por gravedad (a través de un sifón que retiene partículas de grasa por flotación) a una laguna facultativa de unos 1.035 m<sup>2</sup> (Figura 5), que permite la oxidación y decantación de elementos orgánicos que aun pudieran permanecer.

#### ***3- Cloración***

En este último proceso los efluentes pasan a una laguna aeróbica receptora (Figura 6), donde se produce la cloración para eliminar las bacterias presentes.



**Figura 4.** Laguna n° 1 anaeróbica



**Figura 5.** Laguna n° 2 facultativa



**Figura 6.** Laguna n°3 aeróbica y receptora

En el caso de la región del sudoeste de Buenos Aires por sus características semiáridas, las escasas precipitaciones, los bajos rendimientos de los cultivos principales del país y el vuelco de la producción a alternativas no tradicionales, cómo es el caso de cultivos aromáticos y medicinales, sería muy útil y beneficioso desarrollar algún planeamiento que permita la regeneración y el aprovechamiento de aguas residuales provenientes de procesos industriales como en este caso de una planta frigorífica, para su empleo en esta actividad agrícola. Si bien, no siempre los proyectos de reúso son viables, ya que dependen de factores físicos, económicos y sociales, si se mantiene una lógica conservacionista como sustentable y se tiene en cuenta el déficit hídrico de nuestra región, no es descabellado pensar en las aguas residuales como un recurso factible para atender las necesidades hídricas de este tipo de cultivo. Aunque si bien, esta alternativa ya está muy generalizada en muchas regiones, los riegos en cultivos aromáticos y medicinales con aguas regeneradas no se han explorado y los conocimientos a nivel científico son escasos. Es así que los objetivos planteados en este trabajo apuntan a dar una perspectiva más clara sobre este tema y brindar información que pueda ser útil a la hora de abordar proyectos de estas características.

# Objetivos

## Objetivo general

- Evaluar la producción orgánica del cultivo de melisa (*Melissa officinalis*) en las condiciones agroecológicas de la localidad de Cabildo, utilizando agua de riego proveniente del tratamiento de residuales de la industria frigorífica.

## Objetivos específicos

- Analizar los parámetros fenológicos y morfológicos del cultivo.
- Determinar las necesidades hídricas del cultivo de melisa.
- Analizar los rendimientos y realizar un balance económico.

# Materiales y Métodos

## Localización

El ensayo se llevó a cabo durante el periodo 2018-2019 en el predio del frigorífico Cabildo Cooperativa Obrera Ltda. Localizado a 1,3 km de la localidad de Cabildo, partido de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina (38°29'00'' S; 61°54'00'' O). El frigorífico pertenece a la Cooperativa Obrera y se encuentra aproximadamente a 50 km de Bahía Blanca (Figura 7).



**Figura 7.** Vista satelital del Frigorífico y de la parcela experimental dentro del predio

## Características e historia del predio

La superficie total del predio es de 6 hectáreas, totalmente cercado y el lugar donde se llevaron a cabo los ensayos se encuentra en la parte de atrás del frigorífico, sobre un monte de olivos que se desarrollan en un área de 2 hectáreas, antes de los olivos el lugar solo tenía paja vizcachera (*Stipa brachychaeta*). Tanto los olivos como los cultivos aromáticos son parte de un proyecto de colaboración suscripto entre la Universidad Nacional del Sur y la Cooperativa Obrera.

El lugar cuenta con lagunas que almacenan el agua proveniente de los procesos industriales del frigorífico y luego del reciclado de la misma, se reutiliza para el riego de los olivos y las plantas aromáticas.

El sistema de riego que se implementó para las parcelas de ensayo consta de 2 bombas hidráulicas que mueven el agua desde la laguna receptora, obligándola a pasar por un filtro de grava/arena, para luego ser depositada en unos tanques de 1.200 litros de capacidad, los cuales la almacenan y la entregan a la línea de riego, constituida por una

bomba, mangueras y cintas de goteo. Además, se cuenta con un encargado de las labores de mantenimiento del predio y maquinarias, del riego, desmalezado y control de plagas

### Tratamientos y diseño experimental

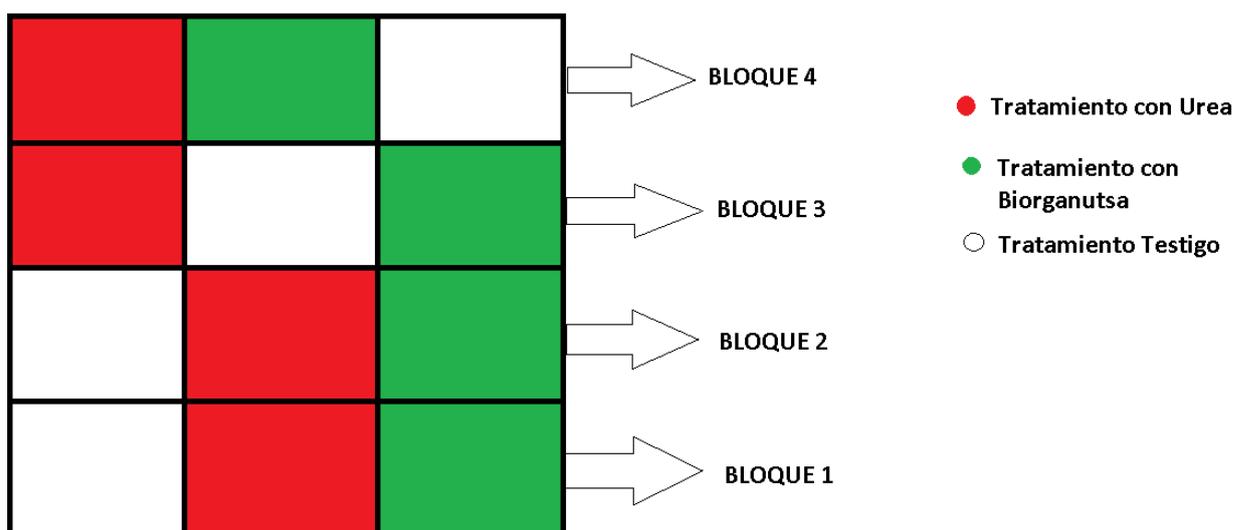
El ensayo comenzó a realizarse en el mes de octubre del año 2018, se utilizaron plantines provenientes del vivero LUNTA, ubicado en la localidad de Mendoza. Las bandejas se mantuvieron en invernadero donde posteriormente se realizó un trabajo de repique, pasando los plantines ya crecidos a bandejas con alveolos más grandes para permitirles un mejor desarrollo y luego llevar a cabo la plantación definitiva. Previo al trabajo de trasplante se llevaron a cabo labores de preparación del suelo, realizando varias pasadas con un motocultivador a los efectos de prepararlo para la plantación. También se procedió a realizar el tendido de las mangueras de riego para finalmente colocar un acolchado de polietileno bicolor de 150  $\mu$  de espesor, colocado con el lado blanco hacia arriba y el lado negro contra el suelo, con el fin de conservar mejor la humedad del suelo alrededor de los plantines y proteger el cultivo de las malezas.

El trasplante se realizó con los plantines en cepellón a una distancia entre plantas de 30 cm y 80 cm entre hileras, se utilizó un diseño de 4 bloques dentro de cada uno se ubicaron los 3 tratamientos (completos), todo dispuesto al azar (Figura 8).

Tratamientos:

- 1- T: Testigo sin fertilización
- 2- B: Fertilización con enmiendas orgánicas (Biorganutsa)
- 3- U: Fertilización química (urea)

Las incorporaciones de las enmiendas orgánicas y fertilizantes químicos se realizaron al momento de la plantación, de manera manual y con una dosis equivalente a 80 kg N ha<sup>-1</sup>



**Figura 8.** Esquema de los bloques para los diferentes tratamientos

### Muestras

Desde la implantación del cultivo a campo hasta el momento de corte, se realizó un seguimiento morfológico y fenológico, tomando datos de altura (cm) y diámetro de mata (cm), en esta última variable morfológica hasta que superaron los 30 cm, sobre un promedio de 10 plantas dentro de cada bloque y de cada tratamiento. También se realizaron labores manuales de desmalezado, se podaron para disminuir el efecto de la dominancia apical y se registró la presencia de plagas y enfermedades.

Las muestras de agua y suelo fueron analizadas en laboratorio, en el agua se midió la cantidad de cationes y aniones presentes en la muestra como así también la conductividad eléctrica y el RAS a fin de analizar la aptitud para riego según la clasificación de Riverside. En las muestras de suelo se analizó el contenido de Materia Orgánica, Nitrógeno total, Fosforo extractable, conductividad eléctrica, pH y se determinó la textura.

La cosecha se realizó en un único corte el día 22 de abril, donde se recolectó la totalidad de los bloques y se dejó la corona y raíces de la planta de melisa en el suelo para su posterior rebrote. A partir del material cosechado se tomaron los siguientes datos de rendimiento en forma secuencial: los pesos fresco y seco por planta, relación Hoja: Tallo. Se calculó con los pesos fresco y seco y teniendo en cuenta una densidad de 62.500 plantas de melisa por hectárea las biomásas fresca y seca totales en  $\text{kg ha}^{-1}$ .

El material fue puesto a secar bajo invernadero por un periodo aproximado de dos meses. Luego con el material totalmente deshidratado se realizó el despallado y se almacenaron las hojas secas en bolsas para luego ser destiladas con el fin de obtener el aceite esencial. Se procedió a la destilación por arrastre con vapor de agua de 12 muestras correspondientes a cada tratamiento, como era preciso obtener una buena cantidad de aceite se realizaron dos destilaciones por muestra, lográndose así un total de 24 destilaciones, cada una, con una duración de 3 a 4 horas aproximadamente.

En el proceso de destilado, el material se coloca dentro del alambique sobre un plato perforado en un recipiente; de esta manera el vapor proveniente de otro recipiente, pasa a través del material arrastrando el aceite (Figura 9). Es un método rápido de destilación, donde el material sufre menos alteraciones. Es importante no desmenuzar mucho las muestras para que no se apelmacen y tampoco que queden en trozos muy grandes, ya que se formarían canales por donde puede pasar el vapor sin arrastrar aceite (Bucciarelli *et al.*, 2014).

Una vez finalizada cada destilación se registraron los gramos de material puesto a destilar, pesados antes de comenzar el proceso, como así también los gramos de aceite esencial obtenido, las muestras de aceites logradas fueron puestas en frascos oscuros identificados y luego almacenados en un refrigerador para su posterior análisis.

Estos análisis se realizaron mediante cromatografía gaseosa asociada a espectrometría de masas (CG-EM), en el laboratorio de Química Orgánica del Departamento de Química de la UNS. Para este proceso se utilizó un cromatógrafo gaseoso Agilent Technology 7890B equipado con una columna capilar HP-5 y acoplado a Espectrómetro de Masa 5977<sup>a</sup> MSD como detector. El gas carrier fue Helio con un caudal de  $1 \text{ ml min}^{-1}$ . Para la detección, se usó un sistema de ionización de electrones con una energía de ionización de 70 Ev. Los extractos se diluyeron en un solvente apropiado a una concentración conocida e inyectados en el cromatógrafo con la técnica splitless.

Las temperaturas del inyector y detector fueron programadas a 220 °C y 290 °C respectivamente. La identificación de los componentes del aceite se realizó por comparación de los espectros de masas con los almacenados en la base de datos del espectrómetro, por comparación de los tiempos de retención con muestras auténticas y por determinación de los índices de retención. La composición relativa porcentual del aceite se determinó directamente de las áreas de los picos del cromatograma.



**Figura 9.** Destilador de vapor (Dpto de Agronomía-UNS)

### **Necesidad hídrica del cultivo de melisa**

La determinación de la necesidad hídrica del cultivo, se realizó mediante la implementación del programa informático CROPWAT 8.0 que utiliza registros climáticos históricos, datos del cultivo y del suelo de la región a estudiar, desarrollado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2002; Allen *et al.*, 2006).

Este programa utiliza la ecuación de Penman-Monteith para calcular la evapotranspiración de referencia ( $ETo$ ), que multiplicada por el coeficiente del cultivo ( $Kc$ ) permite obtener la evapotranspiración del cultivo ( $ETc$ ) o necesidad hídrica de la planta. Con el fin de estimar los valores de  $Kc$  inicial medio y final del cultivo de la melisa para emplearlo en el programa informático CROPWAT 8.0 se procedió a realizar la curva de  $Kc$  representativa de la zona utilizando los datos fenológicos medidos durante el ciclo del cultivo. Es importante aclarar que, los valores de  $Kc$  allí reflejados, fueron tomados en base a cultivos de morfología y ciclo de crecimiento similares (FAO, 2006), a su vez estos valores fueron ajustados de acuerdo al comportamiento y a características propias de nuestro cultivo, como así también de la región donde realizamos el ensayo.

Los datos de la textura arrojados en el análisis de suelo se utilizaron con el fin de determinar parámetros físicos empleando la tabla de Israelsen y Hansen (1965), para luego ser utilizados en el programa informático CROPWAT 8.0.

### **Análisis estadístico**

Los datos de las variables del crecimiento y productivas fueron analizadas estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias se efectuó mediante la diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher al 5%.

### **Análisis económico**

Se realizó un análisis económico para determinar la rentabilidad en la producción de la especie a nivel local, comparándola con otros sitios de referencia de producción nacional.

# Resultados y Discusión

## Análisis del agua de riego utilizada en la parcela de experimentación

El pH indica que se trata de un agua alcalina y según la clasificación de Riverside califica como C3 S2, con una salinidad media, siendo apta para el riego en suelos con buen drenaje y empleada en cultivos tolerantes. Con respecto al contenido de sodio, es moderado y existe un cierto peligro de acumulación en los suelos de textura fina y de baja permeabilidad. Se puede observar que el pH escapa al rango propuesto por la FAO de (6,5-8,4) en la guía sugerida para aguas tratadas en la reutilización agrícola (FAO, 1992). El valor muy alto de pH puede afectar la disponibilidad de algunos nutrientes esenciales como ser los macro y meso nutrientes Nitrógeno, Calcio y Magnesio y algunos oligonutrientes como Hierro, Manganeso, Zinc y Cobre. Se debe tener en cuenta que la presencia de ciertas formas de nutrientes en las aguas residuales puede beneficiar más a algunos cultivos que a otros. Para la aplicación de estas aguas sobre un cultivo específico, es necesario tener en cuenta aspectos como: La capacidad de asimilación de nutrientes, el consumo de agua, la presencia de iones tóxicos, la concentración relativa de Na y el contenido de sales solubles, ya que en ciertas condiciones climáticas puede salinizarse el suelo y modificarse la composición iónica, alterándole características como el desarrollo vegetativo y la productividad (Medeiros *et al.*, 2005).

Las características del suelo y del cultivo de nuestro ensayo, presentan cierta similitud, con respecto a los requerimientos en la clasificación del agua y a los parámetros sugeridos, los resultados fueron los esperados, debido a que el agua mostro una buena aptitud en el riego de la parcela (Tabla 2).

**Tabla 2.** Resultado del análisis del agua de riego donde se implantó la parcela experimental. Laboratorio LANAQUI (laboratorio de análisis químicos) CERZOS-CONICET-UNS.

Parámetros		
pH	9,1	
CE	1,6	dS m <sup>-1</sup>
Na	295	mg L <sup>-1</sup>
Ca	33,3	mg L <sup>-1</sup>
Mg	10,8	mg L <sup>-1</sup>
Cl	253	mg L <sup>-1</sup>
CO <sub>3</sub>	Libre	
HCO <sub>3</sub>	420	mg L <sup>-1</sup>
S-SO <sub>4</sub>	36,6	mg L <sup>-1</sup>
RAS	11,4	
Dureza	127,5	CaCO <sub>3</sub> mg L <sup>-1</sup>

Abreviaturas: CE, conductividad eléctrica; RAS, relación de adsorción de sodio

### Análisis del suelo en la parcela de experimentación

El suelo de la parcela presenta algunas características químicas y biológicas similares al promedio de la región: contenido medio de fósforo, pH algo alcalino y baja salinidad (Panigatti, 2010). Aunque es preciso señalar que posee buen contenido de MO y en su clase textural presenta un porcentaje de arena bastante elevado (Tabla 3).

**Tabla 3.** Resultado del análisis de suelo del lugar donde está ubicada la parcela experimental. Laboratorio de Servicios Analíticos de suelos, plantas y ambiente LABSPA (Ex LANAIS N-15) CERZOS-CONICET-UNS.

<b>Parámetros</b>	<b>Profundidad 0-20 cm</b>	<b>Profundidad 20-40 cm</b>
<b>MO (%)</b>	3,86	2,06
<b>Nt (%)</b>	0,171	0,098
<b>pH</b>	7,1	7,3
<b>Pe (ppm)</b>	17,3	10,3
<b>CE (dS m<sup>-1</sup>)</b>	0,50	0,56
<b>Textura</b>	Franco arenoso	Franco arenoso

Abreviaturas: MO, Materia Orgánica; Nt, Nitrógeno total; Pe, Fósforo extractable; CE, Conductividad Eléctrica.

### Desarrollo fenológico y morfológico del cultivo durante el ensayo

El desarrollo del cultivo no alcanzó el estado reproductivo, por lo que al momento del corte solo se cosecharon hojas y tallos, sin presencia de primordios florales (Fig. 10). Esta situación, si bien, no se encontró información de la especie o especies similares en cuestión, puede ser atribuida a una fecha tardía en el trasplante con respecto a la recomendada. Sin embargo, se esperaría que al segundo año de establecimiento se produzca la reactivación del crecimiento antes de la fecha de trasplante efectuada en el primer año y pueda entrar en la etapa de floración sin inconvenientes, según Fanlo *et al.* (2009), al tratarse de un cultivo perenne, el ciclo del cultivo comienza a mostrar la mayor producción y los más altos rendimientos a partir del segundo año de establecimiento.



**Figura 10.** Cultivo al final de temporada

A los tres meses de la implantación se midieron la altura y diámetro de mata de las plantas, en 4 fechas para todos los tratamientos (Tabla 4).

**Tabla 4.** Efecto de los tratamientos de fertilización sobre altura y diámetro de corona de la planta de melisa en los cuatro muestreos realizados durante el crecimiento vegetativo (letras distintas en columnas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )).

Fechas de muestreo	Tratamientos de fertilización	Variables	
		Altura de la planta (cm)	Diámetro de corona de la planta (cm)
03/01/2019	Testigo	12,5 b	14,5 b
	Biorganutsa	15,2 a	21,9 a
	Urea	15,7 a	21,1 a
24/01/2019	Testigo	14,7 b	25,9 b
	Biorganutsa	16,4 a	29,2 a
	Urea	16,9 a	28,5 a
07/02/2019	Testigo	17,6 b	>30
	Biorganutsa	22,6 a	>30
	Urea	21,8 a	>30
01/03/2019	Testigo	22,2 b	>30
	Biorganutsa	21 b	>30
	Urea	25,4 a	>30

En relación a las variables de crecimiento, los resultados obtenidos muestran que, al inicio del ciclo, las plantas de melisa más altas fueron aquellas que crecieron con los tratamientos de fertilización ya sea orgánica o convencional. En los tres primeros muestreos y a los 5 meses del establecimiento del ensayo, esta variable fue mayor solo en las que se fertilizaron con urea (Tabla 4). El diámetro de mata de las plantas evidenció ser una variable para medir el crecimiento vegetativo de plantas fertilizadas o no hasta los 3 meses de comenzado el ensayo, ya que en ese momento el cultivo había cubierto toda la superficie (Tabla 4). Durante todo el transcurso del ensayo no se registraron plagas o enfermedades de consideración que pudieran afectar el ensayo.

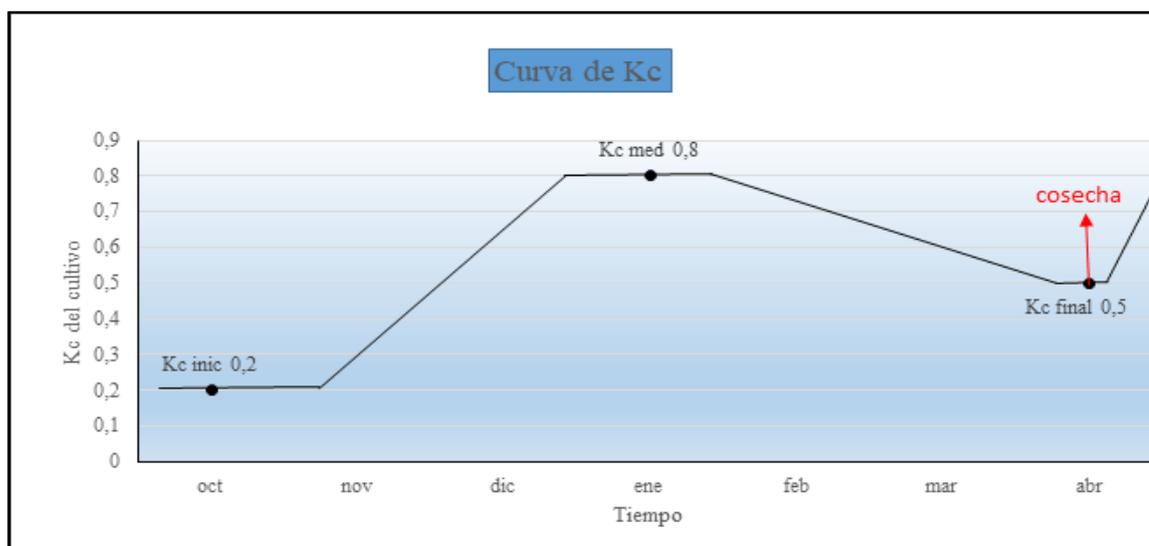
A la mitad del ciclo del cultivo, se comenzó a registrar la presencia de una coloración rojiza-purpura en las hojas y los tallos (Figura 11), este problema se notó en algunos bloques de todos los tratamientos, según Brown *et al* (2003), en cultivos de menta, este síntoma se debe a la deficiencia de fósforo. La menta pertenece a la familia de las labiadas y tiene características morfológicas muy similares a la melisa, por lo tanto, podríamos atribuir esta coloración a la deficiencia de dicho nutriente.



**Figura 11.** Coloración rojiza en hojas de melisa

### **Estimación de las necesidades hídricas de la melisa**

El Kc inicial corresponde a la primera etapa de cultivo, desde su implantación hasta que alcanza aproximadamente el 10 % de cobertura. El Kc medio corresponde a la mitad de temporada del cultivo, es decir, desde que alcanza la cobertura total hasta el comienzo de la madurez, durante esta etapa el Kc aumenta a un valor máximo. Por último, el Kc final corresponde a la etapa final o tardía de crecimiento comprendiendo el periodo entre el comienzo de la madurez hasta el comienzo de la cosecha (Figura 12).



**Figura 12.** Curva de Kc correspondiente al cultivo de melisa

Los valores obtenidos en el Cropwat, la evapotranspiración de referencia (ET<sub>o</sub>) más elevada ocurrió en el mes de enero siendo de 7,99 mm día<sup>-1</sup>. El valor más bajo correspondió al mes de junio con una magnitud de 1,65 mm día<sup>-1</sup>.

Los valores más elevados de evapotranspiración del cultivo (ET<sub>c</sub>) para fines del mes de enero, con una magnitud de 6,76 mm día<sup>-1</sup>, esto se condice con los valores de mayor ET<sub>o</sub> en ese mes, por lo tanto, se puede decir que, el periodo fenológico de mayor demanda hídrica del cultivo de melisa coincide con el periodo de mayor demanda evapotranspirativa atmosférica (Tabla 5).

Bermejo (1996) menciona que la melisa en su ciclo fenológico tiene una demanda hídrica entre 600 y 900 mm entre precipitaciones y riegos de apoyo, siempre dependiendo de las condiciones ecológicas predominantes. Para este estudio la ET<sub>c</sub> fue de 617,3 mm, es decir se ubica dentro del rango mencionado.

Los valores de precipitación efectiva (Pe), se puede observar que solo cubrieron el 52,6 % de la ET<sub>c</sub> durante el ciclo fenológico, con un valor acumulado de 325,2 (Tabla 5). Estos resultados demuestran que, en el sitio de estudio, lo que aportan las precipitaciones no es suficiente para cubrir las necesidades hídricas de este cultivo, por lo tanto, no sería económicamente viable a la hora de realizarlo, no contar con el riego.

Las parcelas que se encuentran bajo riego por goteo, el manejo del agua y la frecuencia de riego por los encargados del lugar, se asume una eficiencia de aplicación de un 90%, incrementando de esta manera el requerimiento neto de 339,6 mm a 377,1 mm de requerimiento bruto durante el ciclo del cultivo (Tabla 5).

**Tabla 5.** Valores obtenidos del CROPWAT 8.0 de los siguientes parámetros: Evapotranspiración del cultivo de melisa (ET<sub>c</sub>), Precipitación efectiva (Pe), Requerimiento neto de agua (Req Neto) y Requerimiento bruto de agua (Req Bruto).

Mes	Dec	ETc (mm día <sup>-1</sup> )	ETc (mm dec <sup>-1</sup> )	Prec. Efec (mm dec <sup>-1</sup> )	Req.Neta (mm dec <sup>-1</sup> )	Lam. Bruta 90% (mm dec <sup>-1</sup> )
Oct	1	0,79	7,9	19,7	0	0
Oct	2	0,86	8,6	22,6	0	0
Oct	3	0,97	10,7	20,6	0	0
Nov	1	1,09	10,9	17,5	0	0
Nov	2	1,22	12,2	15,7	0	0
Nov	3	1,77	17,7	17,1	0,6	0,67
Dic	1	2,65	26,5	19,2	7,3	8,1
Dic	2	3,63	36,3	20,4	15,9	17,6
Dic	3	4,59	50,4	19,5	31,0	34,4
Ene	1	5,68	56,8	18,0	38,8	43,1
Ene	2	6,74	67,4	17,1	50,4	56,0
Ene	3	6,76	74,4	17,7	56,8	63,1
Feb	1	6,39	63,9	18,3	45,5	50,5
Feb	2	6,09	60,9	18,7	42,1	46,7
Feb	3	5,11	40,8	19,4	21,5	23,8
Mar	1	3,97	39,7	20,6	19,2	21,3
Mar	2	2,97	29,7	21,4	8,3	9,2
Mar	3	2,42	2,4	1,8	2,4	2,6
			<b>617,3</b>	<b>325,2</b>	<b>339,6</b>	<b>377,1</b>

### **Rendimientos del cultivo a cosecha**

A los 6 meses de iniciado el ensayo se finalizó recolectando las plantas de melisa de los distintos tratamientos de fertilización y se evaluaron las variables productivas (Tabla 6).

**Tabla 6.** Efecto de los tratamientos de fertilización sobre las biomásas fresca y seca por planta de melisa y por hectárea a cosecha, (letras distintas en columnas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )).

Tratamientos de fertilización	Variables productivas				
	Peso fresco (g planta <sup>-1</sup> )	Peso seco (g planta <sup>-1</sup> )	Relación Hoja : Tallo	Biomasa fresca total (kg ha <sup>-1</sup> )	Biomasa seca total (kg ha <sup>-1</sup> )
<b>Testigo</b>	102,25 b	26,89 b	2,70 a	6390 b	1682 b
<b>Biorganutsa</b>	103,44 b	30,01 ab	2,73 a	6465 b	1876 ab
<b>Urea</b>	125,69 a	33,75 a	2,58 b	7856 a	2109 a

Los pesos fresco y seco por planta de melisa fueron superiores en aquellas fertilizadas con urea, aunque presentaron una menor relación Hoja:Tallo, produjeron una

mayor cantidad de tallos que de hoja (Tabla 6). Por otra parte, la fertilización con biorganutsa o el testigo sin fertilizar, mostraron valores muy similares en las variables observadas y se debería destacar que en ellos se obtuvo una mayor cantidad de hojas y estas son el producto para obtener las distintas manufacturas medicinales y condimenticias (Tabla 6).

El rendimiento por hectárea de biomasa fresca y seca para los tratamientos testigo y con biorganutsa es bastante similar, mientras que, el tratamiento de fertilización con urea, presenta un mayor rendimiento en comparación con los demás (Tabla 6).

**Caracterización del aceite esencial de melisa por medio de sus componentes en función de los distintos tratamientos**

La proporción (%) promedio de los compuestos que se determinaron en el aceite esencial en cada uno de los tratamientos de fertilización aplicados al comienzo del ensayo se presentan en las Tablas 7, 8 y 9.

**Tabla 7.** Composición del aceite esencial sin fertilización (Testigo).

<b>COMPUESTOS</b>	<b>PROMEDIO</b>
( E ) 2-hexenal	6,97
( E ) 2-heptenal	4,36
α-pineno	6,36
tuja-2,4(10)-dieno	3,21
cis-p-ment-2 en -7-ol	6,45
2-pinen-4-ona	2,16
6-metil-5-hepten-2-ona	2,23
1-octen-3-ol	2,50
3-octanone	3,78
acetato de neronilo	1,55
α-2-careno	8,74
m-cimeno	4,81
Eucaliptol	4,43
trans-p-ment-2-en-1-ol	0,84
cis-crisantenol	9,56
<b>Geraniol</b>	<b>32,69</b>
acetato de geraniolo	2,58
8-hidroxinerol	2,16

**Tabla 8.** Composición del aceite esencial en las plantas fertilizadas con Urea.

<b>COMPUESTOS</b>	<b>PROMEDIO</b>
( E ) 2-hexenal	2,90
( E ) 2-heptenal	2,03
α-pineno	3,58
tuja-2,4(10)-dieno	3,62
cis-p-ment-2 en -7-ol	4,58

Verbeneno	2,07
6-metil-5-hepten-2-ona	2,94
1-octen-3-ol	1,64
3-octanone	2,78
m-menta-1(7),8-dieno	3,17
$\alpha$ -2-careno	5,95
m-cimeno	5,57
Eucaliptol	7,16
1,8-cineol	3,46
trans-p-ment-2-en-1-ol	0,99
cis-crisantenol	7,57
<b>Geraniol</b>	<b>20,99</b>
Geranial	3,42
<b>acetato de geranilo</b>	<b>16,49</b>
cis-cariofileno	6,70
oxido de cariofileno	5,38
$\beta$ -eudesmol	7,27
$\beta$ -bisabolol	6,78
(E,E)-acetato de farnesilo	5,45
(Z, $\beta$ )-acetato de santalolilo	2,19

**Tabla 9.** Composición del aceite esencial en las plantas fertilizadas con Biorganutsa.

<b>COMPUESTOS</b>	<b>PROMEDIO</b>
$\alpha$ -pineno	2,28
$\alpha$ -2-careno	5,17
m-cimeno	0,25
Eucaliptol	0,32
<b>Mentol</b>	<b>22,23</b>
cis-oxido de bisaboleno	8,65
Geraniol	6,51
<b>Geranial</b>	<b>13,53</b>
acetato de geranilo	1,44
cis-cariofileno	13,95
cis-mirtanol	0,822
<b>oxido de cariofileno</b>	<b>22,55</b>
pimara-7,15-dien-3-ona	0,924
isovalerato de geranilo	1,485
$\beta$ -eudesmol	3,454

El aceite extraído de las plantas crecidas en un suelo con ciertas características (Tabla 3) y sin fertilizar presentó una alta proporción de geraniol, con un promedio del 32,69 % (Tabla 7). En tanto las plantas fertilizadas con Urea, los compuestos en cantidades más representativas fueron el geraniol con un promedio del 20,99% y el acetato de geranilo con 16,49% (Tabla 8). En las enmendadas orgánicamente con Biorganutsa, se encontró un alto contenido de óxido de cariofileno con un promedio de

22,55% seguido por mentol con 22,23%, además de geranial (13,53 %), componente del terpenoide citral, principal componente del aceite esencial (Tablas 1 y 9) (Moradkhani *et al.*, 2010). El óxido de cariofileno presente en las plantas de melisa fertilizadas con la enmienda orgánica convierte a esta especie en una posible fuente natural de este compuesto que otorga múltiples propiedades antioxidantes, microbiológicas, conservantes y aromatizante de alimentos (Acevedo *et al.*, 2013).

Las diferencias encontradas entre los resultados obtenidos y lo reportado en la bibliografía consultada puede ser consecuencia de una serie de factores que varían tanto el porcentaje, como la composición química de los aceites esenciales; estos son la edad de la planta, el lugar geográfico y las condiciones ecológicas, entre otras (Sánchez Govín *et al.*, 2010; Acevedo *et al.*, 2013). Variaciones cualitativas de los componentes del aceite esencial de melisa fueron debidas a factores genéticos y a las condiciones ambientales, duración del día y composición del suelo (Sánchez Govín *et al.*, 2010) y además al periodo en el cual fueron cosechadas las hojas para su posterior secado (Saeb y Gholamrezaee, 2012).

### Análisis económico

A continuación, se muestra el análisis que se llevó a cabo tomando como referencia los precios actuales de los distintos materiales, actividades, rendimientos potenciales estimados del cultivo y los precios de venta que se manejan en la región.

**Tabla 10.** Costos del riego

Material/Equipo	Cantidad	Precio unitario	Total	Vida útil (años)	Cuota anual amortización
Bomba 3HP	1	\$ 24.000	\$ 24.000	10	\$ 2.400
Filtro de grava	1	\$ 32.000	\$ 32.000	10	\$ 3.200
Manguera de cabecera (2")	100	\$ 200	\$ 20.000	10	\$ 2.000
Iniciadores para riego por goteo	150	\$ 20	\$ 3.000	10	\$ 300
Cinta de goteo	15.000	\$ 7	\$ 105.000	5	\$ 21.000
<b>Total ítem</b>					<b>\$ 28.900</b>

**Tabla 11.** Costos preparación del terreno

Labores	Pasadas	Costo unitario por pasada por ha	Total
Rastra de discos	2	\$ 1.900	\$ 3.800
Cultivador de campo	1	\$ 1.000	\$ 1.000
Incorporación de enmienda al voleo	1	\$ 500	\$ 500
Conformación del camellón	1	\$ 1.000	\$ 1.000
<b>Total ítem</b>			<b>\$ 6.300</b>

**Tabla 12.** Costos de plantación

Material	Cantidad	Precio unitario	Total	Vida útil (años)	Cuota anual amortización
Biorganutsa	1.500	\$ 20	\$ 30.000	1	\$ 30.000
Plantines de melisa	62.500	\$ 5	\$ 312.500	5	\$ 62.500
Jornales montaje sistema de riego	5	\$ 1.050	\$ 5.250	10	\$ 525
Jornales plantación	15	\$ 1.050	\$ 15.750	10	\$ 1.575
<b>Total ítem</b>					<b>\$ 94.600</b>

**Tabla 13.** Costos del mantenimiento del cultivo

Actividad	Cantidad	Precio unitario	Total
Jornales desmalezada manual	20	\$ 1.050	\$ 21.000
Jornales fertilización	4	\$ 1.050	\$ 4.200
<b>Total ítem</b>			<b>\$ 25.200</b>

**Tabla 14.** Costos de cosecha

Actividad	Cantidad	Precio unitario	Total
Jornales corte	10	\$ 1.050	\$ 10.500
Jornales traslado y disposición	4	\$ 1.050	\$ 4.200
<b>Total ítem</b>			<b>\$ 14.700</b>

**Tabla 15.** Costos de post-cosecha

Material/Equipo	Cantidad	Precio unitario	Total	Vida útil (años)	Cuota anual amortización
Invernadero para deshidratar	438	\$ 1.200	\$ 525.600	5	\$ 105.120
Despalilladora	1	\$ 170.000	\$ 170.000	20	\$ 8.500
<b>Total ítem</b>					<b>\$ 113.620</b>
<b>Costos directos producción de melisa.ha<sup>-1</sup></b>					<b>\$ 283.320</b>

**Tabla 16.** Margen Bruto de la melisa en base a rendimientos de kg de hoja seca.ha<sup>-1</sup>

<b>MARGEN BRUTO</b>	<b>Rendimiento bajo (1.500kg)</b>	<b>Rendimiento medio (2.000kg)</b>	<b>Rendimiento alto (3.000kg)</b>	<b>Precio por kg vendido</b>
<b>Ingresos totales</b>	\$ 447.000	\$ 596.000	\$ 894.000	<b>\$ 298</b>
<b>Costos directos totales</b>	\$ 283.320	\$ 283.320	\$ 283.320	
<b>Resultado</b>	<b>\$ 163.680</b>	<b>\$ 312.680</b>	<b>\$ 610.680</b>	

El análisis arrojó datos interesantes en cuanto a la rentabilidad que puede dejar la producción de este cultivo, con una notable diferencia en los márgenes cuando los rendimientos son altos (Tabla 16). Se puede observar que los mayores costos directos provienen de la etapa de post-cosecha (Tabla 15), debido a que la inversión para la construcción de un invernadero para almacenar y secar lo producido en una hectárea de cultivo es considerablemente alta. Estos costos se podrían reducir si en vez de construir una instalación de 438 m<sup>2</sup> se construyera una de menores dimensiones, con la finalidad de ir secando el material por tandas, respetando el tiempo que el cultivo pueda permanecer en el campo al final de su ciclo, por ejemplo, para un rendimiento promedio de biomasa fresca total (hojas y tallos) de 5.000 kg.ha<sup>-1</sup>, un tiempo de secado de poco más de dos días y realizando 4 cortes al final del ciclo, sería necesario solo un invernadero de aproximadamente 100 m<sup>2</sup> para secar todo el material en 4 tandas, terminando de cortar todo el cultivo en un lapso de 7 días y de esta manera no comprometer la calidad del producto. Hay que señalar que, con esta alternativa, aun teniendo en cuenta el costo de los jornales de corte y traslado, hay una buena reducción del costo y también es menor la superficie a utilizar, aportando así, más rentabilidad a la actividad. Sin embargo, a la hora de producir a gran escala cultivos de este tipo, hay que tener en cuenta ciertas consideraciones como, la disponibilidad de la tierra, el juego de la oferta y la demanda, control de plagas y enfermedades y la distancia hacia los centros de comercialización. Estas consideraciones no están contempladas en el análisis y que pueden afectar el resultado final

## Conclusiones

- La melisa (*Melissa officinalis* L.) mostró una buena respuesta de adaptabilidad y rusticidad a las condiciones climáticas y edáficas a las que fue expuesta en la localidad de Cabildo, Partido de Bahía Blanca, mostrando valores de producción satisfactorios, buen estado sanitario y una calidad aceptable del producto obtenido.
- El agua residual proveniente de los procesos industriales del frigorífico resultó apta para el riego y complementó las necesidades hídricas del cultivo durante todo su ciclo.
- Según las características agroecológicas de la zona, el cultivo de melisa presenta un requerimiento hídrico superior a la oferta de agua que brindan las precipitaciones, donde se esperarían elevados rendimientos únicamente en producciones bajo riego.
- A cosecha, las plantas que no fueron fertilizadas presentaron un buen comportamiento al igual que las enmendadas en forma orgánica, y teniendo en cuenta los costos que implica la fertilización inorgánica, se podría cultivar melisa sin la aplicación de fertilizantes sintéticos.
- El estudio económico arrojó que los costos directos que provienen de la superficie de las instalaciones que se necesita para secar el material podrían disminuir si se construye un invernadero de menores dimensiones y se realiza varios cortes del cultivo, respetando el tiempo de permanencia a campo sin comprometer la calidad del producto final, e ir secando el material por turnos sucesivos.
- Teniendo en cuenta todo lo abordado en este trabajo, sería interesante estudiar más a fondo este cultivo en la región como una alternativa promisorio de producción de especies aromáticas y medicinales en la zona.

## Bibliografía

- Acevedo, D; Navarro, M. y Montero, P. 2013. Composición química del aceite esencial de las hojas de toronjil (*Melissa officinalis* L.). Información Tecnológica, vol. 24(4): 49-54.
- Albado, E.; Saez, G. y Grabiell, S. 2001. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Revista Médica Herediana, 12(1), 17-19.
- Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., Anwar, F. 2015. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. Asian. Pac. J. Trop. Biomed., 5(8): 601-611.
- Allahverdiyev, A., Duran, N., Ozguven, M., Koltas. S. 2004. Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2. Phytomedicine, 11(7-8): 657-661.
- Allen R.G., Pereyra L.S., Raes D., Smith M. 2006. Evapotranspiración del cultivo: guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos. Roma: FAO, artículo n°56, 298 pp.
- Bandoni, A., Retta, Diana., Di Leo Lira, Paola M., Baren, Catalina M. van. 2009. ¿Son realmente útiles los aceites esenciales?, Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. Universidad de Santiago de Chile 8(5), 317-22.
- Bermejo, A. 1996. *Melissa officinalis* en la provincia de Cuenca. Hoja Informativa n° 7. Junta de Comunidades de Castilla La Mancha.
- Bertranou, A. y Araujo, E. 2002. “Investigación sistémica sobre regímenes de gestión del agua”. Caso Mendoza. INA-CELA. Ed. Global Partnership. Mendoza. Argentina.
- Brown, B., Hart, J.M., Wescott, M.P., Christensen, N.W. 2003. The critical role of nutrient management in mint production. Better Crops whit Plant Food 87 (4): 9-11
- Bucciarelli, A., Jouglard, E., Lloret, R., Moreno, M., Rubio, A. 2014. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de Origen vegetal con aplicación Farmacéutica. Editorial de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.
- Davis P. 1988. Aromatherapy- an AZ: C.W. Daniels, Saffron Walden, UK, Citing Naves Natural Perfume Materials. NY Reinhold Publ; 14 (6): 452-456.
- Dobrecky, L.P. 2012. Plantas Aromáticas y Medicinales- Primera parte. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Páginas Recreativas Edición N°7. Pág. 13-14
- Fanlo, M; Melero, R; Moré, E; Cristóbal, R. 2009. Cultivos de plantas aromáticas medicinales y condimentarias en Cataluña. Centro Tecnológico Forestal de Cataluña, E-25280 Solsona (España). Pag 22-31
- FAO. 1992. Wastewater treatment and use in agriculture. Estudio FAO: Riego y drenaje N° 47. Roma, FAO.

- FAO. 2002. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Agua y Cultivos: Logrando el uso óptimo del agua en la agricultura. Roma. 26 pp.
- FAO. 2006. Evapotranspiración del cultivo. Guías para la determinación para el requerimiento de agua de los cultivos. Estudio FAO: Riego y drenaje N° 56. Roma, FAO.
- Fretes F. 2010. Plantas Medicinales y Aromáticas una alternativa de producción comercial. (USAID). Programa Paraguay Vende. Pag 7.
- Israelsen, O.W., Hansen, V.E. 1965. Principios y Aplicaciones de Riego. 396p. edición 2.
- ITEIPMAI. 1992. (Institut Technique Interprofessionnel des plantes à Parfum, Médicinales) et Aromatiques Mélisse. Fiches techniques bio. Chemille Francia. ITEIPMAI.
- Koehler, L. 1887. *Melissa officinalis* URL:<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Koeh-094.jpg>.
- Medeiros, S., Soares, A., Ferreyra, P., Neves, J., De Matos, A., De Souza, J. 2005. Utilização de água residuária de origem doméstica na agricultura: estudo das alterações químicas do solo. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental 9(4), 603-612.
- Ministerio de Salud de Chile. 2010. MHT (Medicamentos Herbarios Tradicionales). 100 Especies vegetales. Gobierno de Chile. Red de Protección social. Pag 197-198
- Moradkhani, H.; Sargsyan, E.; Bibak, H.; Naseri, B.; Sadat-Hosseini, M.; Fayazi-Barjin, A. and Meftahizade H. 2010. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4(25), pp. 2753-2759, 29 December Special Review, 2010 .Available online at <http://www.academicjournals.org/JMPR>.
- Mosquero, M.A. 2001. 76. Sobre *Melissa officinalis* L. subsp. *Officinalis* en Andalucía occidental. Acta Botánica Malacitana 26. Pag 277-278.
- Panigatti, J.L. 2010. Argentina 200 años, 200 suelos. Ediciones INTA. 345 p.
- Paunero I., Spotorno V. y Poggi L. 2016. Memoria Técnica: Investigaciones en plantas aromáticas y medicinales. EAA INTA San Pedro. Provincia de Buenos Aires. Argentina. Libro digital, PDF.
- Paunero, I. 2017. Situación actual del cultivo de plantas aromáticas y medicinales en Argentina. Gacetilla digital ([www.inta.gob.ar/sanpedro](http://www.inta.gob.ar/sanpedro)). EEA INTA San Pedro. Provincia de Buenos Aires. Argentina.
- PROSAP-UTF. 2014. Desarrollo Institucional Para la Inversión. Estudio del potencial del uso alternativo de fuentes de agua: Las Aguas Residuales.017/ARG.
- Restrepo y Alarcón J.J. 2011. Plantas aromáticas y medicinales Enfermedades de importancia y sus usos terapéuticos. Bogotá D.C Colombia.
- Renobales G. y Sallés J. 2001. *Melissa officinalis*: morfología y ecología. Revista

Plantas de interés farmacéutico. Pág. 53

- Saeb, K. y Gholamrezaee, G. 2012. Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis* L. leaves during different stages of plant growth, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), 547-549.
- Sánchez Govin, E.; León Fernández, M.; Chávez Figueredo, D.; Hechevarría Sosa, I. y Pino, J. 2010. Caracterización farmacognóstica de *Melissa officinalis* L (Toronjil). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(4), 198-208.
- Suárez Cruz, J.S. 2007. “Más de 100 Plantas Medicinales en Medicina Popular Canaria” Las Palmas. *Obra Social de La Caja de Canarias*. Pág 1-2-3
- UN-Water. 2013. Proyecto Safe Use of Waste Water in Agriculture. URL:<http://www.ais.unwater.org/ais/course/view.php?id=6>.