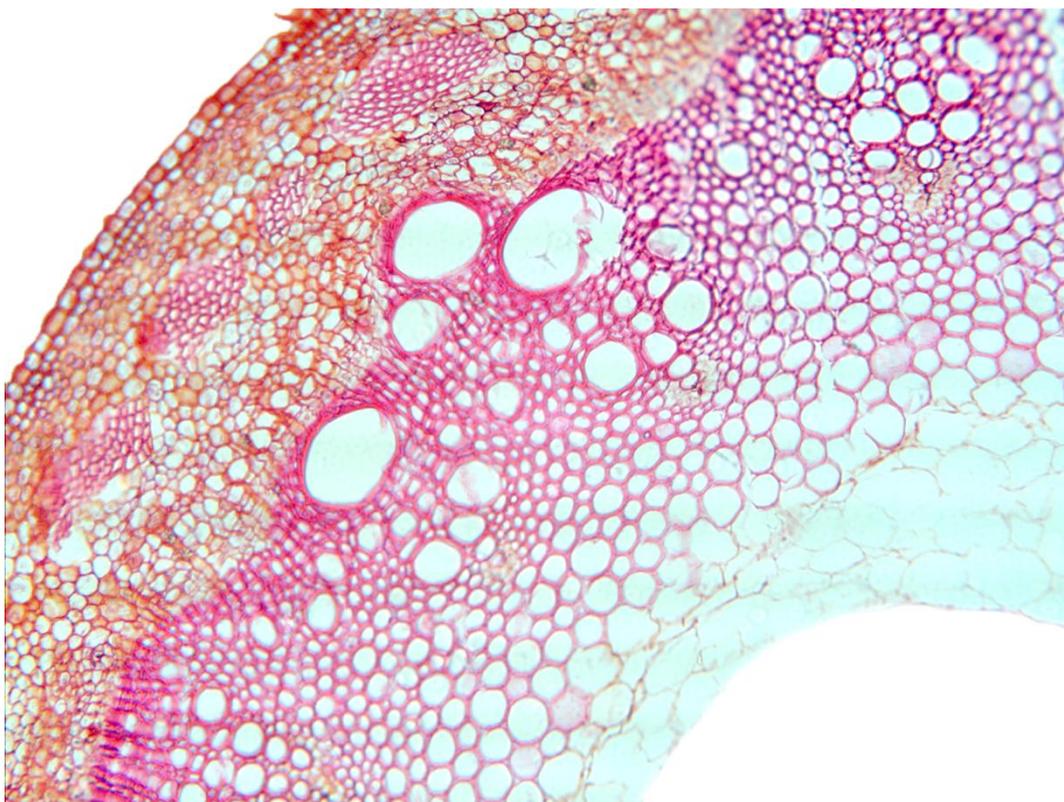


Steviana



Passiflora caerulea L., corte transversal de tallo.



Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales
Departamento de Biología
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad Nacional de Asunción



Steviana es una publicación de investigación primaria que cubre todas las líneas de trabajo en el campo de la Ciencias Botánicas y áreas relacionadas. Las subsecciones temáticas son: Conservación, Ecología, Etnobotánica y Botánica Económica, Ficología, Fisiología, Biotecnología, Fitoquímica, Flora y Vegetación, Genética y Biología Molecular, Micología, Morfoanatomía Vegetal, Sistemática y Taxonomía, Toxicología, entre otras.

Cuenta con dos versiones, impresa con tirada anual (ISSN 2077-8430) y on-line con publicación semestral (ISSN 2304-2907). La revista se encuentra indexada desde el 2012 al Catálogo de Latindex con N° de Folio 21767. Se publican investigaciones originales (artículos) y revisiones (reviews) sin costo para los autores.

Los artículos publicados en *Steviana*, son de interés para especialistas dentro de este campo, cuyos resultados y conclusiones principales son inéditos. Los mismos pasan por una evaluación imparcial y crítica realizado por especialistas ajenos al Comité Editorial, respaldando así la calidad de los trabajos publicados. El sistema de arbitraje principalmente empleado es doble ciego.

La **Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Universidad Nacional de Asunción**, agradece a los investigadores que han dedicado su tiempo y esfuerzo incondicional en el arbitraje de los artículos:

Dr. Víctor Manuel Bandala Muñoz

Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Veracruz, México.

Dra. Larissa Trierveiler Pereira

Universidad Estadual de Maringa, Brasil.

Dra. Natalia Dolce

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Argentina. Instituto de Botánica del Nordeste, (UNNE-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Argentina.

Dr. Ricardo Daniel Medina

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Argentina. Instituto de Botánica del Nordeste, (UNNE-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Argentina.

Dr. Enrique Zamorano-Ponce

GENOTOX – Facultad de Ciencias, Universidad del Bio Bio, Chile.

Dr. Gerardo Lucio Robledo

Laboratorio de Micología – Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Dr. Nicolás Niveiro

Instituto de Botánica del Nordeste, Argentina

Dr. Luis Diorio

Dpto. de Biodiversidad y Biología Experimental – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Dra. Laura L. Villalba

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Argentina.

Dr. Gerardo Cebrian Torrejon

Grupo de Bioinorganica e Sistemas Nanometricos – Universidade Federal Fluminense, Brasil.

Dra. María Daniela Rodríguez

Instituto de Biotecnología de Misiones – Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Argentina.

Dr. Pablo Daniel Postemsky

Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles y Medicinales (CERZOS-CONICET-UNS) - Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina.

Agr. Luis Jorge Oakley

Cátedra de Botánica. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario, Argentina

Dr. Mario Saparrat

INFIVE-CONICET, La Plata, Argentina.

Dr. Orlando Popoff

Instituto de Botánica del Nordeste, Argentina.

Dra. Graciela Ponessa

Instituto de Morfología Vegetal, Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCION

RECTOR

Prof. Lic. Abel Bernal Castillo, M.Sc.

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

DECANO

Prof. Lic. Constantino Nicolás Guefos K., MAE

CUERPO EDITORIAL

Editor

Bonifacia Benítez de Bertoni (FACEN-UNA)

Co-editor

Claudia Pereira Sühsner (FACEN-UNA)

Asistente de edición

Claudia Mancuello (FACEN-UNA)
Fidelina González (FACEN-UNA)
Michelle Campi (FACEN-UNA)

Diseño y diagramación

Claudia Pereira Sühsner

Fotografía de la tapa

Claudia Pereira Sühsner

Revisión de escrito en Inglés

Nidia Beatriz Benítez Candia (FACEN-UNA)

Comité Científico

Christian Vogt (FACEN-UNA)

Gloria Yaluff (FACEN-UNA)

Juana de Egea (Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica - CEDIC)

María Fátima Mereles H. (Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica - CEDIC)

María Vera (FACEN-UNA)

Pastor Arenas (CEFYBO-CONICET, UBA, Argentina)

Revista *Steviana*: Indexada al Catálogo de Latindex, N° de Folio 21767

DIRECCIÓN OFICIAL

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UNA
Teléfono-fax: (595-21) 585 600
Dirección Postal: 1039
Campus Universitario, San Lorenzo-Paraguay
Página web: www.facen.una.py

CONTENIDO POR SECCIONES

Biotecnología

- 3 – 8 Evaluación *in vitro* del potencial de *Trichoderma* sp. empleando hidrocarburos como fuente principal de Carbono
Reyes, Y.; Quintana, S.; Cabrera, M.; Vázquez, L.; Arrúa, A.; Martínez, L.

Botánica Económica

- 9 – 30 Algunos aspectos ecológicos y de aprovechamiento de ciertas especies arbóreas y arbustivas en el área de influencia de los Arroyos Caañabé y Mbaey, Departamento de Paraguarí-Paraguay
Benítez, B.; Bertoni, S.

Fisiología Vegetal

- 31 – 43 Embriogénesis cigótica *in vitro* de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd ex Mart. en medios con bencilaminopurina y carbón activado
Fiori Fernández, C.; Díaz Lezcano, M.I.; González Segnana, L.R.

Micología

- 43 – 49 Nuevos registros de *Calvatia rugosa* (Berk. & M.A. Curtis) D.A. Reid y *Vascellum pampeanum* (Speg.) Homrich (Agaricaceae-Basidiomycota) en Paraguay
Campi, M.; Maubet, Y.

Toxicología

- 50 - 58 Actividad antimutagénica de *Salvia hispanica* sobre mutaciones y recombinaciones somáticas en *Drosophila melanogaster*
Gayozo, E.; Rivarola, C.; Marín Insfrán, L.; Filizzola, N.

Evaluación *in vitro* del potencial de *Trichoderma* sp. empleando hidrocarburos como fuente principal de Carbono

Reyes, Y.¹; Quintana, S.¹; Cabrera, M.¹; Vázquez, L.¹; Arrúa, A.²; Martínez, L.³

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN), Universidad Nacional de Asunción (UNA)

²Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT), Universidad Nacional de Asunción (UNA)

³Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN), Universidad Nacional de Asunción (UNA)

E mail del autor: magalizrc@gmail.com

Evaluación *in vitro* del potencial de *Trichoderma* sp empleando hidrocarburos como fuente principal de Carbono. La biorremediación es una herramienta para la degradación o transformación de diferentes tipos de contaminantes y el principio de su uso se basa en los sistemas enzimáticos de los hongos que pueden degradar una variedad de compuestos. *Trichoderma* sp. tiene la capacidad de degradar compuestos derivados de petróleo, por lo que puede ser una alternativa viable para la descontaminación. Para determinar su efectividad se llevó a cabo un ensayo, en condiciones *in vitro*, cultivándolos a diferentes concentraciones de glucosa: diésel en las siguientes proporciones: 75:25, 50:50 y 25:75, en un medio de extracto de papa natural. Cada tratamiento se realizó por duplicado. Las mediciones se llevaron a cabo en un periodo de 14 días observando que la mejor proporción diésel:glucosa fue 75:25, lo que muestra que posiblemente el hongo degrada mejor los hidrocarburos en presencia de un bioestimulante como la glucosa o dextrosa, como fuentes secundarias de carbono.

Palabras Clave: biorremediación, *Trichoderma* sp., hidrocarburos, degradación, potencial

In vitro evaluation of the potential of *Trichoderma* sp using hydrocarbons as main source of Carbon Mycoremediation is a very useful tool for degrading and transforming different types of pollutants in some environments and its main function is based on fungus enzymatic systems that can remove a wide variety of compounds. *Trichoderma* sp has the ability to degrade petroleum-derived compounds, hence it is a viable alternative to decontaminate soils affected by fuel leaks. To determine its effectiveness a trial was carried out in which samples of *Trichoderma* sp. Were grown in *in vitro* conditions at different concentrations of glucose-diesel, whose proportions were: 75:25, 50:50, 25:75 using a medium of natural potato extract. Each treatment was done in duplicate. Measurements were taken during 14 days, and it was observed that the best proportion diesel-glucose was 75:25, which might indicate that the fungus degrades hydrocarbons more effectively in the presence of a biostimulant such as glucose or dextrose as secondary sources of carbon.

Keywords: bioremediation, *Trichoderma* sp., hydrocarbons, degradation, potential

INTRODUCCIÓN

El petróleo es una mezcla compleja de compuestos orgánicos incluyendo algunos constituyentes órgano-metálicos, los complejos más solubles son aquellos de níquel y vanadio. El petróleo se extrae de diferentes reservas y en todas se puede

observar algunas variaciones en cuanto a su composición. Se sabe que los derivados de petróleo, entre ellos, el diésel; sirven como sustrato para diferentes microorganismos que modifican el crudo por medio de varias vías metabólicas para su beneficio, por lo que son una opción favorable a la hora de remediar los

Steviana, Vol. 8(1), 2016 pp. 3 – 8.

Original recibido el 30 de junio de 2016.

Aceptado el 12 de septiembre de 2016.

ecosistemas dañados, pero también existen ciertas condiciones de estos microorganismos, como el hecho de que deben ser termófilos, resistentes a solventes orgánicos, enzimas termoestables y bajos requerimientos de oxígeno (Anneweiler, E. *et al.*, 2000).

La micorremediación se define como la acción utilizar hongos en ambientes contaminados para acelerar los procesos de biodegradación naturales (Swannell, R. *et al.*, 1996). Los resultados de ensayos a campo han sido evaluados para ser utilizados en el tratamiento de ambientes contaminados por derrames de petróleo o sus derivados, y se han observado que son favorables pero hay muchos factores que afectan a estos tratamientos, como las condiciones climáticas y los niveles de oxígeno, por lo que es conveniente tratar de controlar en lo posible la mayor cantidad de variables para lograr resultados óptimos. Las respuestas fisiológicas de diversos microorganismos frente a los hidrocarburos, incluyendo las alteraciones de la membrana y los mecanismos de adaptación han sido ampliamente estudiadas con el advenimiento de la biología molecular, y se ha podido comprender en gran parte la dinámica de las comunidades microbianas en los ecosistemas que han sufrido un impacto del petróleo (Van Hamme, J. *et al.*, 2003).

Estudios parciales han demostrado la efectividad del uso de hongos para remediación en derrames de petróleo, debido a que, al parecer, ciertos tipos de hongos desarrollan un sistema enzimático luego de estar en contacto con los hidrocarburos por largo tiempo, y se vieron resultados favorables en suelo más que en agua (Sherard *et al.*, 1976) lo que puede

deberse a que el ambiente acuático es más difícil que se lleve a cabo la esporulación y también la inhibición de las esporas por la alta salinidad en caso de ambientes marítimos. El objetivo del trabajo radica en evaluar el potencial de *Trichoderma* sp., en la utilización de hidrocarburos (diésel) como fuente de carbono a diferentes concentraciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la cepa

La cepa de *Trichoderma* sp. fue provista por la Dra. Andrea Arrúa. La misma, fue aislada a partir de semillas de trigo en el Laboratorio de Biotecnología de Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA).

Se empleó Diésel (derivado de petróleo) para la evaluación de la capacidad degradadora de hidrocarburos, el mismo fue obtenido en forma comercial de una estación de servicios del microcentro de Asunción.

Activación de la cepa Trichoderma sp.

La activación se llevó a cabo en las instalaciones del CEMIT, con tal motivo, se procedió a inocular una placa con medio agar-dextrosa-papa, tomando un explante de la cepa provista e inoculándola. La misma fue mantenida a temperatura ambiente (25°C), por siete días bajo condiciones controladas de luz y humedad. Posteriormente, se caracterizó el hongo mediante microscopía, de modo a evitar la presencia de esporas contaminantes en la placa.

Inoculación de Trichoderma sp en medios de cultivo conteniendo Glucosa y Diésel como fuente principal de carbono

Los medios de cultivo empleados en los tratamientos fueron preparados teniendo en cuenta las proporciones de carbono presente en la formulación de los medios agar-dextrosa-papa (PDA) y agar-glucosa-papa (PGA), señalados por Cañedos *et al*, 2004. como medios óptimos y adecuados para el aislamiento y cultivo de hongos filamentosos. Los medios de cultivo fueron autoclavados por 15 minutos a 121 °C, el diésel fue agregado, posteriormente.

La cepa activada de *Trichoderma sp* fue inoculada por duplicado y mantenida a temperatura ambiente en condiciones de luz y humedad por siete días, realizando diariamente tomas fotográficas y mediciones en las placas inoculadas.

Tratamiento 1: PGA (glucosa como única fuente de carbono), preparado según especificaciones de Narrea *et al*, 2006.

Tratamiento 2: PGAH 75:25 (glucosa (75%p/p) y diésel(25%p/p) como principales fuentes de carbono), con 0,75 g. de glucosa y 143,5 µL de diesel para 50 mL de medio.

Tratamiento 3: PGAH 50:50 (glucosa (50%p/p) y diésel (50%p/p) como principales fuentes de carbono), con 0,50 g. de glucosa y 286,5 µL de diesel para 50 mL de medio.

Tratamiento 4: PGAH 25:75 (glucosa (25%p/p),y diésel (75%p/p) como principales fuentes de carbono), con 0,25 g. de glucosa y 430 µL de diésel para 50 mL de medio.

Tratamiento 5: PHA (hidrocarburo (Diesel) como única fuente de Carbono), con 573 µL de diésel para 50 mL de medio.

El tratamiento 1 PGA se empleó como control negativo del experimento mientras

que el tratamiento 5 PHA fue empleado como control positivo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se puede observar en la figura 1, la cepa inoculada de *Trichoderma sp* presentó crecimiento radial en los tratamientos aplicados. Se evidencia una gran diferencia de crecimiento radial entre el control positivo (Diesel como única fuente de Carbono) y el negativo (Glucosa como única fuente de carbono), registrándose un radio inferior a los 1 cm para el control positivo y un radio de 4,5cm (radio total de la placa) para el control negativo en la última medición del día 14. En los tratamientos restantes se presentó un crecimiento mayor a los 3cm, evidenciando la capacidad del hongo de crecer en presencia de diesel en el medio de cultivo.

Si bien la figura 1 muestra crecimiento del hongo en todos los tratamientos, los mismos presentan diferencias en cuanto a la capacidad de crecer en forma radial, variando la eficiencia de crecimiento en cada tratamiento aplicado. Este efecto se muestra en la figura 2, la cual denota que la mayor eficiencia corresponde al tratamiento 2, siendo esta mayor incluso al del control negativo en donde se empleó glucosa como única fuente de Carbono disponible para la cepa. La menor eficiencia para crecimiento radial se observó en control negativo (Diesel como principal fuente de carbono), con lo cual se evidencia que la cepa de *Trichoderma sp* tiene la capacidad de crecer en presencia de diesel como única y principal fuente de carbono, a pesar de que la eficiencia sea la más baja entre los tratamientos aplicados.

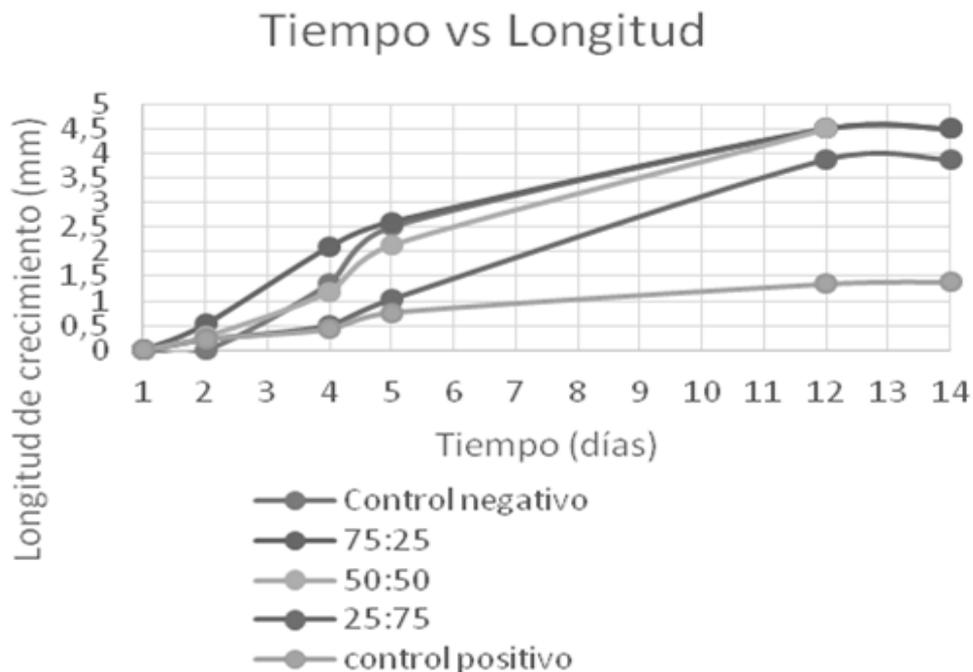


Fig. 1: Crecimiento radial de la cepa de *Trichoderma* sp evaluado en los 5 tratamientos aplicados. Se presenta la curva de crecimiento radial para los cinco tratamientos aplicados en el experimento. El control negativo y positivo involucra a la glucosa y diesel como la fuente principal de carbono, respectivamente. Los tratamientos 75:25, 50:50 y 25:75 corresponde a la proporción Glucosa:Diesel como fuentes principales de carbono. Las mediciones de los radios fueron efectuados hasta el día 14 posterior a la inoculación.

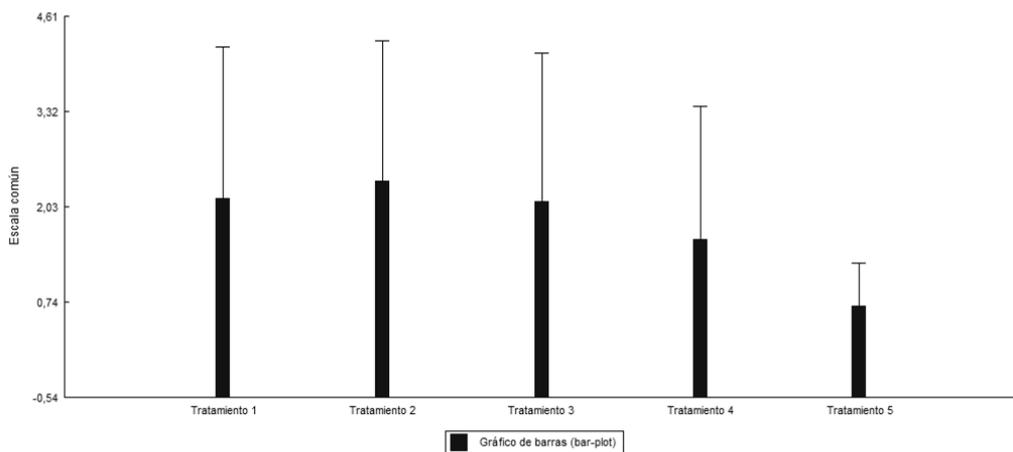


Fig. 2: Eficiencia de los tratamientos para el crecimiento radial de la cepa de *Trichoderma* sp: Se representa la eficiencia de los tratamientos utilizados para en el experimento. La misma fue estimada considerando el radio de la placa (4,5cm) y el crecimiento radial de las cepas de *Trichoderma* sp a los 14 días posteriores a la inoculación.

El crecimiento de la cepa de *Trichoderma* en medios de cultivos conteniendo Diesel, evidencia su capacidad para emplear el hidrocarburo como fuente principal de carbono y energía. Esto coincide con los resultados de Tanzadeh y Hachichat (2014) quienes lograron aislar cepas de *Trichoderma harzanium* en muestras de Diesel puro.

Siendo *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* los géneros de mayor frecuencia identificados en un análisis metagenómico realizado por Pernia y colaboradores en el 2012 sobre muestras de suelo contaminado con hidrocarburo, la capacidad demostrada en el trabajo de *Trichoderma* sp podría representar una alternativa al empleo de microorganismos con riesgo de patogenicidad.

Se ha mencionado que la capacidad degradativa se halla limitada en por tres factores principales; la estructura química, concentración del compuesto, y el metabolismo microbiano (Mardones, 2005).

El crecimiento radial de la cepa de *Trichoderma* sp, disminuyo ante el aumento de concentración de Diesel Oil en el medio, esto pone de manifiesto que efectivamente la concentración es un factor que influye en la degradación del compuesto (Velasco, 2002).

El Diesel oil adicionado al medio no impidió el crecimiento del hongo, la estructura química del compuesto podría estar relacionado con esto, siendo el Diesel oil un compuesto cuya estructura es de 10 a 15 átomos de carbono por molécula, se lo considera biodegradable según la clasificación efectuada por Hamzah (2012) quien propuso que los compuestos con aproximadamente 10 a 20 átomos de carbonos son los más biodegradables, en tanto que aquellos compuestos con 20 a 40

átomos por molécula, resultan menos biodegradables.

El hecho de que se haya presentado crecimiento radial en todos los tratamientos, inclusive en tratamiento 5 en el cual el Diesel era la única fuente de carbono y que se haya evidenciado diferentes efectividades entre los tratamientos, se demuestra que la capacidad del microorganismo de adaptarse al sustrato es un factor influyente en la degradación del contaminante. En base a estos resultados, se considera que la cepa de *Trichoderma* sp utiliza Diesel Oil como fuente de energía para su crecimiento.

CONCLUSIONES

Los ensayos permitieron conocer las proporciones en las cuales *Trichoderma* sp. posee un mayor crecimiento radial, siendo el tratamiento 2: PGAH 75:25 (glucosa (75%p/p) y diesel (25%p/p) como principales fuentes de carbono) la que permitió un mejor desarrollo del hongo, en tanto que el menor crecimiento radial se presentó en el tratamiento 5 PHA (hidrocarburo(Diesel) como única fuente de Carbono), esto indica que si bien el diesel puede ser utilizado como sustrato para el crecimiento del hongo es necesario que en el medio se encuentre otra fuente de carbono que ayude a potenciar el crecimiento y obtener una mejor utilización del diesel lo cual se puede lograr a través de la bioestimulación y de esta manera se podría realizar la biorremediación de ambientes contaminados por la presencia de Diesel.

AGRADECIMIENTOS

A CEMIT y FACEN.

REFERENCIAS

- Anneweiler, E.; Kulkarni, S.; Palanade, A. 2000. Biorremediation of Petroleum Hydrocarbos in Soils. Microorganisms in Enviromental Management: Microbes and Environment. Doi10.10007/978-94-0072229-3_26.
- Cañedo, V.; Ames, T. 2004 Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos entomopatógenos. CIP Lima – Perú. 20p.
- Castells, X. 2012 Reciclaje de residuos industriales. Editorial Díaz de Santos. Argentina. pp 624-624.
- Hamzah, A.; Zarim, M.; Hamid, A.; Senafi, F. 2012 Optimal physical and nutrient parameter for growth of *Trichoderma virens* for heavy crude oil degradation. *Sain Malasyana* 41(1): 71-79.
- Mardones, L. 2005. Degradación de Petróleo por Hongos aislados de la XII Región de Chile contaminados con hidrocarburos. Tesis de grado presentado para el título de Lic en Ciencias Biológicas. Chile.
- Narrea, M.; Zeballos, J. 2006. Evaluación de Medios de Cultivo para la producción de conidias y crecimiento diametral de cuatro cepas de hongos entomopatógenos, *Beauveria brongniartii*. *Revista Peruana de Entomología* 45: 145-14.
- Pernía, B.; Demey, J.; Inojosa, Y.; Naranjo, L. 2012. Biodiversidad y Potencial Hidrocarbonoplastico de hongos aislados de crudos y derivados: Un análisis metagenómico. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental* 4: 1-39.
- Sherard, J.; Steele, R.; Decker, R. 1976. Pinhole Test for Identifying Dispersive Soils. *Journal of the Geotechnical Engineering Division* 102 (1): 69-85.
- Swannell, R.; Reilly, T.; Sveum, P.; Oudot, J. 1996. A protocol for experimental assessments of bioremediation strategies on shorelines. In: Proceedings of the International Oil Spill Conference. Washington, DC: American Petroleum Institute. 1995: 901-902.
- Tanzadeh, J.; Hachichat, A. 2014 Aplicación de *Bacillus subtilis* in degradation of Diesel Oil at polluted soil in Gilan. *Science* 971-976.
- Van Hamme, J.D.; Singh, A.; Ward, O. 2003. Recent Advances in petroleum microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67 (4): 503-549.
- Velasco, J. 2002. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Instituto Nacional de Ecología y Red Latinoamericana de Prevención y gestión de Sitios Contaminados ReLASC. Perú. 28p.

Algunos aspectos ecológicos y de aprovechamiento de ciertas especies arbóreas y arbustivas en el área de influencia de los Arroyos Caañabé y Mbaey, Departamento de Paraguari-Paraguay

Benítez, B.¹; Bertoni, S.²

¹Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Asunción

²Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Asunción

E mail del autor: bbenbert@facen.una.py

Algunos aspectos ecológicos y de aprovechamiento de ciertas especies arbóreas y arbustivas en el área de influencia del A° Caañabé y Mbaey, Departamento de Paraguari-Paraguay. El presente estudio tiene por objetivo realizar una caracterización de los aspectos ecológicos y de aprovechamiento de ciertas especies arbóreas y arbustivas en el área de influencia de los Arroyos A° Caañabé y Mbaey, Departamento de Paraguari-Paraguay. Se aplicó metodología de muestreo dirigido en parcelas de 10 x 100 m en comunidades vegetales representativas del área de estudio, así como entrevistas a informantes calificados; se identificaron las especies y los tipos de uso. Se evaluaron un total de 42 especies; las comunidades identificadas fueron bosque en galería y matorral higrófilo. Del 100% de especies citadas el 21 % corresponden a la familia Fabaceae, el 12 % pertenecen a Myrtaceae y el 11 % a Euphorbiaceae, mientras que el 9 % son de la familia Rutaceae,. Se registraron diferentes tipos de usos, entre los que se citan la Forrajera alternativa, Medicinal, Alimenticia, Artesanal, Herramienta, Construcción, Mueble rústico, Melífera, Leña, Postes, Ornamental. De entre todas las especies citadas como forrajeras que forman el 100% de especies registradas, el 86 % son aprovechadas como leña, 83% son melíferas y 76% son de uso para la fabricación de postes.

Palabras clave: arbustos y árboles, comunidades, ecología, usos

Ecological aspects and use of certain tree and shrub species in the area of influence of A° Caañabé and Mbaey, Department of Paraguari-Paraguay. The aim of this study is to characterize ecological aspects and use of certain tree and shrub species in the area of influence of the streams Caañabé and Mbaey, situated in the Department of Paraguari-Paraguay. Directed sampling methodology was applied to plots of 10 x 100 m in representative plant communities in the study area and interviews with qualified informants were applied. Species and types of use were identified. A total of 42 species were evaluated; the communities identified were gallery forest and hygrophyllic. Out of the 100% of the species cited, 21% correspond to the Fabaceae family, 12% belong to Myrtaceae and 11% to Euphorbiaceae, while 9% are of the Rutaceae family. Different types of uses, including alternative Forage, Medicinal, Food, Artisanal, as a Tool, in Construction, for the making of rustic furniture, Melliferous, Firewood, Poles, and Ornamental were cited. Of all the species listed as fodder, which make up 100% of the recorded species, 86% are exploited as firewood, 83% are melliferous, and 76% are used for manufacturing poles.

Key word: shrubs and trees, communities, ecology, uses

INTRODUCCION

El uso de la diversidad de plantas, es una práctica permanente en numerosos

pueblos y regiones de América. En este contexto, existen plantas de uso medicinal, industrial, oleífera, textil, frutal, melífera, forrajera, entre otros tipos de usos. El área

Steviana, Vol. 8(1), 2016 pp. 9 – 30.

Original recibido el 05 de agosto de 2016.

Aceptado el 24 de noviembre de 2016.

estudiada corresponde a una zona ganadera, donde predominan principalmente pequeños productores. Se observa en el área de estudio una degradación intensiva de los recursos naturales, cuyos elementos como la flora, la fauna silvestre y el suelo, están sometidos a prácticas de aprovechamiento que se contraponen con el uso sostenible de los elementos de la naturaleza. Cabe acotar que el bosque nativo es un elemento fundamental e insustituible para mantener el equilibrio ambiental que necesariamente debe conservarse, en la actualidad se observa un bosque muy degradado, debido a la deforestación, el avance de las fronteras agrícolas, ganaderas y antropogénicas.

El área de estudio está comprendida dentro de la Provincia Paranense (Cabrera y Willink, 1973) y corresponde a la Flora Residual del Pleistoceno con influencia de elementos de la Flora Meridional del Planalto y de los elementos de la Flora de la Mata Atlántica (Spichiger *et al.*, 1995). También se encuentra en el área de estudio elementos de la formación del Alto Paraná (Spichiger *et al.*, 1992).

Sin embargo, el modelo tradicional de los tres pilares del desarrollo sostenible; sostenibilidad ambiental, desarrollo social y desarrollo económico; tiene una debilidad fundamental por el hecho de que no se reconoce que el medio ambiente es el marco global en el cual las economías y las sociedades tienen que desarrollarse y también implica que el bienestar económico puede lograrse a expensas del bienestar social y ambiental; ésta organización considera que un modelo más fuerte de la sostenibilidad requiere que se mantenga a la sociedad, a la economía y al

medio ambiente de manera simultánea en buenas condiciones (IUCN, 2008).

El desarrollo económico y el aumento de la población del país, se traducen en un sustancial aumento de la presión antrópica sobre los recursos naturales; el desarrollo no planificado y, por ende, desordenado del Paraguay ha llevado a comprometer no solamente la supervivencia de los ecosistemas y las especies nativas, sino también el propio futuro económico y social del país; la explotación ganadera se basa casi en su totalidad en praderas naturales. Las praderas cultivadas no llegan al 30 % de las naturales y en su mayoría se encuentran en áreas que anteriormente eran boscosas tanto en la Región Oriental como en la Occidental. Esta situación resulta evidente con los datos sobre el cambio del uso de la tierra desde el año 1996 en cuanto a la vegetación de bosques y praderas de la región oriental reportado por Schvarzmann y Santander (1996) en el Primer Informe Nacional, comparados con los datos del Instituto de Biotecnología (INBIO) del año 2008; de esta manera, es posible visualizar que las formaciones boscosas consideradas como Bosque Alto degradado y Bosque Ralo en isla reportados en el Informe han desaparecido, mientras que las praderas altas, que corresponden a praderas cultivadas en su mayoría se han incrementado. Estos datos permiten presumir que la expansión de la frontera agrícola-ganadera se ha dado en los últimos 10 años en la región oriental del país sobre bosques que de alguna manera ya no mantenían sus características originales en el Informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación-Paraguay (FAO-DIA-MAG, 2008).

El estudio de las especies nativas, es un campo en el cual todo está por hacerse desde la caracterización de las especies conocidas de uso tradicionales hasta el inicio de procesos de domesticación de aquellas que ya cuentan con un valor agregado como el caso del Mbokaya, ka á he é, y las especies medicinales, aromáticas y forrajeras que forman grandes ecosistemas de pastizales nativos sobre el cual se ha desarrollado una de las

principales actividades productivas la ganadería. (FAO-DIA-MAG, 2008).

MATERIALES Y METODOS

Área de estudio

Este trabajo fue llevado a cabo en el Departamento de Paraguari. Los sitios de trabajo corresponden a estancias ubicadas en la zona de influencia de los arroyos Caañabé y Mbaey, la ubicación de las parcelas se observan en la Fig. 1.

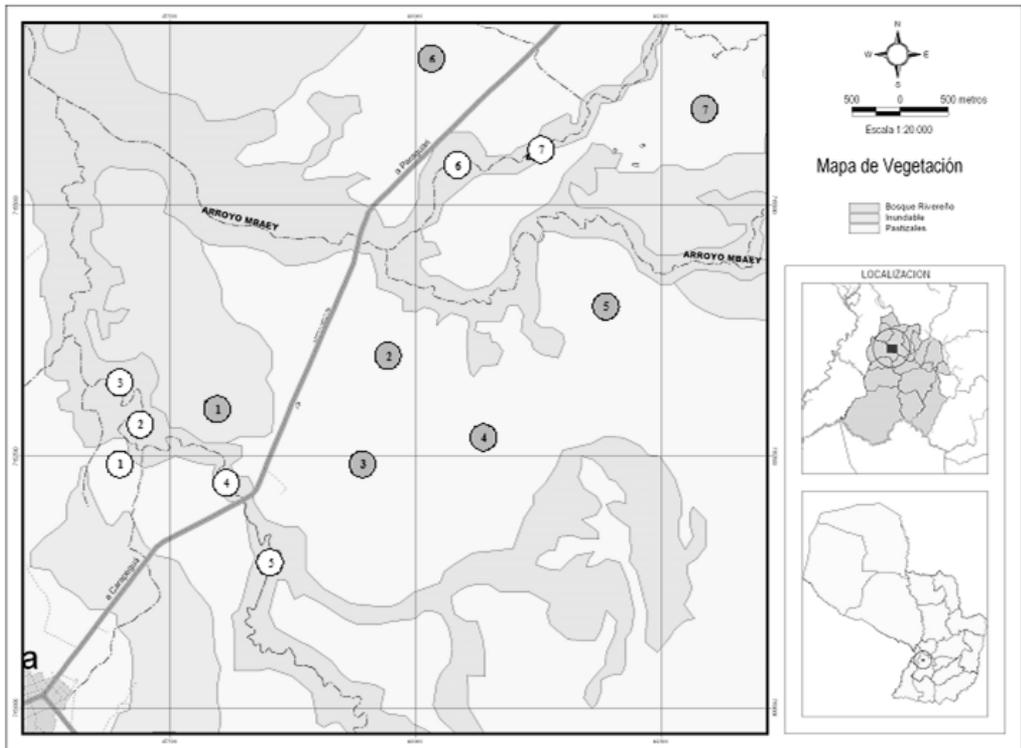


Fig. 1: Mapa de estudio. ○ Referencias: Parcelas en bosque en galería 1: 25°44'44,33" S 57°13'38,52" O; 2: 25°44'23,64" S 57°13'41,27" O; 3: 25°43'56,61" S 57°14'04,50" O; 4: 25°44'51,79" S 57°13'06,11" O; 5: 25°45'24,56" S 57°12'44,52" O; 6: 25°43'14,6" S 57°11'43,61" O; 7: 25°43'20,52" S 57°11'7,14" O. ● Parcelas en matorral higrofilo 1: 25°44'08,88" S 57°12'08,97" O; 2: 25°44'11,58" S 57°12'07,92" O; 3: 25°44'56,43" S 57°12'15,66" O; 4: 25°44'43,90" S 57°11'35,85" O; 5: 25°43'53,37" S 57°10'48,72" O; 6: 25°42'32,51" S 57°12'23,89" O; 7: 25°43'05,39" S 57°10'12,01" O.

Diseño de trabajo

Diagnóstico rural participativo

Se aplicó un sistema de diagnóstico, con 30 entrevistas semi-estructuradas, a través de la utilización de planillas de encuestas, a los diferentes actores sociales: propietarios, capataces y personal de campo de las zonas ganaderas productivas.

Se elaboró un listado preliminar, de especies arbóreas y arbustivas, para posteriormente ser aplicado y confrontado con los resultados de las entrevistas que se implementaron con los informantes calificados. La información obtenida, fue registrada en tablas con el listado de especies y el tipo de aprovechamiento de cada una.

Además de la información obtenida a través de los informantes, se realizaron caminatas junto con los mismos en parcelas de 100 x 10 m, para identificación del ramoneo del ganado y de otros tipos de aprovechamiento, siendo utilizada ésta como referencia para el censo de los árboles y arbustos, los datos fueron registrados en una planilla de campo.

Identificación taxonómica y caracterización de las especies

La determinación fue realizada utilizando claves para los diferentes grupos taxonómicos, se identifica la Familia y la especie considerando el sistema elaborado por Stevens (2001 onwards). Para las cuestiones nomenclaturales se utilizó la Base de Datos del Darwinion (Flora del Cono Sur, 2016), Missouri Botanical Garden (TROPICOS, 2016), The Plant List (2013) y Flora del Paraguay de Ferrucci (1991), Soloaga *et al.* (2000), Spichiger y Mascherpa (1983), Spichiger y Stutz de Ortega (1987). De cada especie se menciona el sitio donde fue publicada por

primera vez; la sinonimia; se cita el nombre común mencionado por los informantes del área estudiada; la caracterización ecológica y de usos fue elaborada considerando la información bibliográfica disponible, las observaciones en el sitio estudiado y los datos reportados por los informantes calificados; se describe el material de referencia de la especie.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se entrevistaron a 30 informantes calificados, tales como cuidadores de estancias, capataces y propietarios de estancias. Como resultado de las entrevistas se registró un total de 18 familias y 42 especies, de uso múltiple. La presencia de todas estas fue corroborada en cada sitio de muestreo a través de observaciones in situ.

Del 100% de especies citadas el 21 % corresponden a la Familia Fabaceae, el 12 % pertenecen a Myrtaceae, el 11 % a Euphorbiaceae, y el 9 % a la familia Rutaceae, (Fig. 2). Se registraron diferentes tipos de usos mencionados por los informantes, entre los que se citan: Forrajera alternativa, Medicinal, Alimenticia, Artesanal, Herramienta, Construcción, Mueble rústico, Melífera, Leña, Postes, Ornamental. De entre todas las especies citadas como forrajeras que forman el 100% de especies registradas, el 86 % son aprovechadas como leña, 83% son melíferas y 76% son de uso para la fabricación de postes (Fig. 3).

La diversidad de uso de las especies responde a las necesidades particulares de las poblaciones rurales, quienes adaptan sus hábitos de acuerdo a la disponibilidad de recursos vegetales; los cuales son a su vez el resultado de la acción antropogénica

y de los procesos que involucran algunas actividades agrícolas de subsistencia y principalmente actividades ganaderas características de la zona de estudio. Las especies registradas como arbóreas y arbustivas utilizadas se mencionan a continuación:

***Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart., *Hist. Nat. Palm.* iii. 66. tt. 286 (1823).**

Sin.: *Acrocomia totai* Mart., *Acrocomia chunta* Covas & Ragonese, *Cocos aculeata* Jacq.

Nombre común: mbocaya

Familia Arecaceae

Especie encontrada escasamente en el bosque en galería del área estudiado; con una alta capacidad para colonizar sitios perturbados, se desarrolla en suelos de baja calidad para la agricultura, es de uso

múltiple y habita la Región Oriental del Paraguay (Benítez *et al.*, 2011). Las hojas de la planta adulta y los frutos son forrajeras, la raíz de las plántulas son utilizadas en medicina popular por sus propiedades abortifacientes y diuréticas (Benítez *et al.*, 2008). Según observaciones de campo los frutos se mantienen aproximadamente 8 días en el suelo sin descomponerse, la almendra forma parte de la dieta de las familias rurales, el carozo del fruto es de uso artesanal, el tallo es utilizado como material para construcción y para postes, es melífera y a su vez es una especie utilizada como fuente de biodiesel; la cascarilla y el carozo del fruto se utiliza como fertilizante biológico y como combustible para ciertos tipos de hornos.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1540 (FACEN).

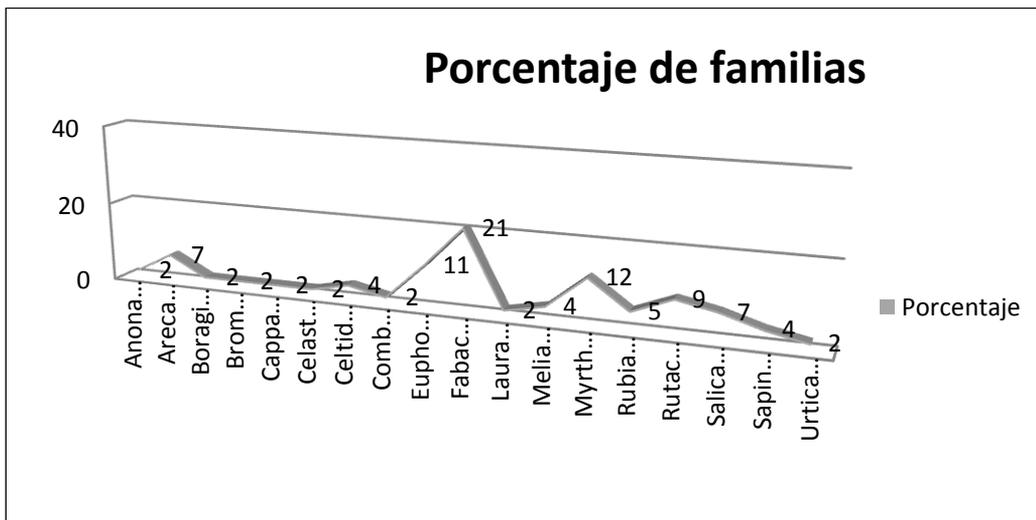


Fig. 2: Porcentaje de especies por familia en relación al total.

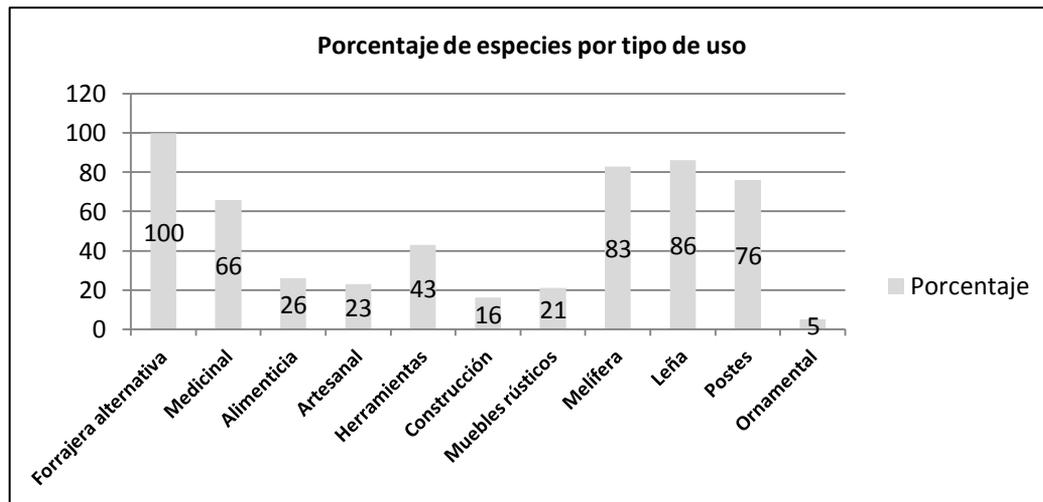


Fig. 3: Porcentaje de especies por tipo de uso.

***Actinostemon concolor* (Spreng.) Müll. Arg., Prodr. [A. P. de Candolle] 15(2.2): 1193. 1866**

Sin.: *Gussonia concolor* Spreng., *Actinostemon multiflorus* Müll. Arg., *Dactylostemon oligandrus* Müll. Arg., *Actinostemon oligandrus* (Müll. Arg.) Baill., *Actinostemon polymorphus* Müll. Arg., *Gymnanthes concolor* (Spreng.) Müll. Arg., *Stillingia concolor* (Spreng.) Baill.

Nombre común: ñuati arroyo

Familia: Euphorbiaceae

Ecología y uso: la especie es característica de lugares bajos y húmedos donde suele formar comunidades muy representativas, habita en campos y márgenes de bosques húmedos caducifolios, las semillas son dispersadas por las aves. Es una especie caducifolia que forma parte del bosque en galería de los arroyos y se encuentra en cantidad abundante, florece al mismo tiempo que brotan sus hojas nuevas y en ese momento es visitada por las abejas; el tamaño máximo de sus hojas se alcanza recién durante la fructificación (Guaglianone, 1999); es de gran utilidad

para las familias rurales principalmente como forraje, materia prima para carbón en la industria de la olería artesanal, para leña, se usa además como material para algunos tipos de herramientas rústicas y como postes.

Material de referencia: Paraguarí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1545 (FACEN).

***Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron. ex Niederl., Bol. Mens. Mus. Prod. Argent. 3(29): 180. 1890**

Sin.: *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron. ex Niederl. var. *gracilis*, *Allophylus pauciflorus* Radlk. var. *rojasii*, *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron. ex Niederl. var. *rosae*, *Schmidelia edulis* A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess., *Urvillea seriana* Griseb.

Nombre común: koku

Familia: Sapindaceae

Es característica de montes costeros y barrancas arenosas (Ferrucci, 1991), aunque también se lo encuentra en los bosques altos, formando pequeños grupos. Se registró su presencia en el bosque en

galería y en el matorral higrófilo. Es usada en el medio rural como forrajera alternativa en periodos críticos, en medicina popular las hojas maceradas se utilizan como refrescante en infusión fría, su fruto es comestible, es melífera, se usa como leña y postes. Sus frutos además de ser consumidos por el hombre es una fuente de alimentación importante de la fauna silvestre quienes distribuyen la semilla.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1535 (FACEN).

***Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer**, *Ann. Naturhist. Mus. Wien*, B 108: 194. 2007

Sin.: *Rollinia emarginata* Schltdl., *Rollinia hassleriana* R.E. Fr., *Rollinia longipetala* R.E. Fr., *Rollinia emarginata* Schltdl. var. *longipetala*, *Rollinia hassleriana* R.E. Fr. var. *vestita*, *Rollinia glaucescens* Sond., *Rollinia sonderiana* Walp.

Nombre común: aratiku

Familia: Annonaceae

Es de hábito gregario encontrándose en el interior y márgenes de bosques, matorrales, áreas secundarias y bosques degradados (Spichiger y Mascherpa, 1983). Por su condición de especie heliófila en sus primeros estadios de desarrollo, predomina en los claros de las áreas fuertemente ramoneadas por el ganado. De fruto múltiple, carnoso e indehisciente, cuya unidad de dispersión es el fruto y es zoocora (Keiti *et al.*, 2009), reúne las condiciones adecuadas en el sitio para su multiplicación. Esta área es el que se encuentra más presionado por la presencia del ganado, quienes serían los dispersores de las semillas, además de que la zoocoria predomina en sitios cerrados como es el

caso de la zona estudiada. Se encontró en el sitio estudiado poblaciones importantes en el bosque en galería y en el matorral periódicamente inundable. Es usada como forrajera alternativa, medicinal, su fruto es comestible, la madera se usa para mangos de herramientas, es melífera, se aprovecha como leña y postes.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1484 (FACEN).

***Bromelia balansae* Mez**, *Fl. Bras. (Martius)* 3(3): 181. 1891.

Sin.: *Bromelia laciniosa* auct. non Mart. ex Schult. f., *Bromelia argentina* Baker, *Bromelia pinguin* auct. non L.

Nombre común: karaguata

Familia: Bromeliaceae

Especie que forma parte del sotobosque de los bosques incluidos en los campos naturales; es poco frecuente observarlo en comunidades puras en bosques altos. Las plántulas jóvenes son usadas como forrajeras, además son de uso medicinal y son comercializadas en el mercado informal como ornamental. Las fibras extraídas de las hojas son aprovechadas ocasionalmente para diferentes usos, cabe señalar que éstas son utilizadas por los Guaraníes para fabricación de cuerdas, hilos para confeccionar bolsos y prendas de vestir (Muller, 1989 en Keller *et al.*, 2009), cuerdas para guitarra (Keller, 2010) y violines. Sus frutos suelen ser consumidos en el medio rural poniéndolos bajo las cenizas para reducir los efectos de la alta acidez.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1525 (FACEN).

Casearia gossypiosperma Briq., *Bull. Herb. Boissier* 7, App. 1: 55. 1899

Sin.: *Gossypiospermum paraguariense* Rehder

Nombre común: mbavy

Familia: Salicaceae

Especie de distribución aislada, en los bosques incluidos de los campos del Paraguay Central generalmente está en el estrato superior. En el sitio estudiado se encuentra una población bastante densa en un área específica; las plantas pierden totalmente sus hojas y cuando llega el periodo de floración también brotan las hojas en forma simultánea, al mismo tiempo que son visitadas por las abejas. Es usada frecuentemente como forrajera alternativa, medicinal, herramientas, construcción, melífera, leña y postes.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1490 (FACEN).

Casearia sylvestris Sw., *Fl. Ind. Occid.* ii. 752. 1798.

Nombre común: burro ka'á

Familia: Salicaceae

Especie heliófila que se desarrolla frecuentemente en sitios abiertos así como dentro de los bosquetes que se encuentran en zonas de influencia de pequeños productores ganaderos, donde es sometido a fuertes presiones de ramoneo y pisoteo. Es frecuente observarla como especie colonizadora en zonas muy sobrecargadas de vacunos en el Paraguay Central. Se encontraron escasos individuos en el bosque en galería. Es forrajera, de uso medicinal, melífera, leña y se aprovecha como postes.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1546 (FACEN).

Cecropia pachystachya Trécul, *Ann. Sci. Nat., Bot. sér.* 3, 8: 80. 1847.

Sin.: *Cecropia adenopus* Mart. ex Miq., *Cecropia adenopus* Mart. ex Miq. var. *vulgaris*, *Cecropia lyratiloba* Miq., *Cecropia adenopus* Mart. ex Miq. var. *lyratiloba*, *Cecropia adenopus* Mart. ex Miq. var. *macrophylla*, *Cecropia glauca* Rojas Acosta, *Cecropia catarinensis* Cuatrec., *Cecropia cinerea* Miq.

Nombre común: amba'y

Familia: Urticaceae

Especie de bosques secundarios, se encuentra raramente representada en los bosques altos. Es usada como forrajera, medicinal, melífera y para leña, el fruto es consumido por el hombre en el medio rural y fuente importante como alimento de la fauna silvestre. Las hojas de esta planta es utilizada para pulir artesanías hechas de astas de animales vacunos.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1551 (FACEN).

Celtis chichape (Wedd.) Miq., *Fl. Bras.* 4(1) 181 1853

Sin.: *Celtis pubescens* (Kunth) Spreng. var. *chichape*, *Celtis tala* Gillies ex Planch. var. *chichape*, *Momisia chichape* Wedd., *Celtis tala* Gillies ex Planch. f. *obtusata*,

Nombre común: juasy'y

Familia: Celtidaceae

Especie que se distribuye en los lugares húmedos primero como árbol y luego se comporta como liana. Se aprovecha como leña y sus semillas, en artesanía, son utilizadas por taxidermistas para la elaboración de ojos de animales. Árbol de hoja semicaducifolia. Como todas las otras especies de *Celtis*, presenta cierta abundancia en el bosque en galería, distribución agrupada y las mismas

características ecológicas que las demás especies, atendiendo a que todas ellas se encuentran en las adyacencias de los cursos de agua y en lugares periódicamente inundables. Además del uso como forrajera alternativa, observada en el campo, se menciona la importancia de la misma por su utilización como medicinal.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1500 (FACEN).

***Celtis iguanaea* (Jacq.) Sarg.,** *Silva* 7 64. 1895.

Sin.: *Celtis pubescens* (Kunth) Spreng., *Celtis spinosa* Spreng., *Celtis aculeata* Sw., *Celtis diffusa* Planch., *Celtis glycyarpa* Mart. ex Miq., *Celtis morifolia* Planch., *Celtis triflora* (Klotzsch) Miq., *Mertensia pubescens* Kunth, *Rhamnus iguanaeus* Jacq., *Mertensia aculeata* (Wedd.) Schult., *Mertensia iguanaea* (Jacq.) Schult., *Momisia iguanaea* (Jacq.) Rose & Standl., *Momisia aculeata* (Sw.) Klotzsch, *Momisia triflora* Ruiz ex Klotzsch, *Momisia pubescens* (Kunth) F.G. Dietr., *Momisia tarijensis* Wedd., *Momisia spinosissima* Wedd., *Celtis spinosissima* (Wedd.) Miq.

Nombre común: juasy'y

Familia: Celtidaceae

Esta especie es característica de las toposecuencias bajas y periódicamente inundadas, se caracteriza por formar comunidades puras en el bosque en galería; lo que se evidencia aún más al analizar el tipo de distribución que es agrupada. Se aprovecha como forrajera alternativa, es medicinal, melífera, como leña y sus semillas son utilizadas en artesanía para la elaboración de ojos de animales.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1502 (FACEN).

***Copernicia alba* Morong,** *Ann. New York Acad. Sci.* vii. (1893) 246.

Sin.: *Copernicia australis* Becc., *Copernicia australis* Becc. var. *alba*, *Copernicia australis* Becc. var. *nigra*, *Copernicia cerifera* Mart., p.p., *Copernicia chacoana* Rojas Acosta, nom. superfl., *Copernicia rubra* Morong, *Copernicia nigra* Morong ex Becc., nom. nud., *Coryphomia tectorum* Rojas Acosta, *Copernicia ramulosa* Burret

Nombre común: Karanda'y

Familia: Arecaceae

Especie frecuente en el Chaco húmedo, formando las Sabanas palmares. Se encuentra escasamente representada en el matorral higrófilo en el área de influencia del A° Caañabé. Es de uso forrajera tanto las hojas juveniles y sus frutos, las hojas son de uso artesanal (Benítez 2006), se usa como postes, para construcciones de casas en las zonas rurales, el cogollo es aprovechado como sustituto del palmito, es melífera, su inflorescencia es usada como escoba en las casas de campo.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1541 (FACEN).

***Cordia americana* (L.) Gottschling & J.S. Mill.,** *Syst. Bot.* 31(2): 364. 2006

Sin.: *Cordia patagonula* Aiton, *Patagonula australis* Salisb., *Patagonula americana* L. var. *glabra*, *Patagonula americana* L. var. *hirsuta*, *Patagonula glabra* (Cham.) Miers, *Patagonula tweediana* Miers, *Patagonula fuscata* Rojas Acosta, nom. nud., *Patagonula alba* Rojas Acosta, nom. nud., *Patagonula*

americana L., *Patagonica americana* (L.) Kuntze

Nombre común: guajayvi

Familia: Boraginaceae

Es una especie de distribución aislada en esta zona, formando parte del estrato superior de los remanentes del bosque en galería, además se identificaron unos pocos individuos dentro del matorral higrófilo. Se utiliza como forrajera alternativa en la etapa arbustiva, es de uso medicinal, se aprovecha el tallo para fabricación de herramientas rurales, en construcción, elaboración de muebles rústicos y carretas, es melífera, como leña, utilizada como postes y sombras en los patios de las casas. Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1530 (FACEN).

***Cynophalla retusa* (Griseb.) X. Cornejo & H.H. Iltis, *Harvard Pap. Bot.* 13(1): 119. 2008.**

Sin.: *Capparis retusa* Griseb., *Capparis retusa* Griseb. var. *velutina*, *Capparis cynophallophora* L. var. *cuneata*, *Capparis cynophallophora* L. var. *retusa*

Nombre común: kumanda ka'aguy

Familia: Capparaceae

Especie ampliamente representada en el Chaco y escasa en el matorral higrófilo en la zona de influencia del A° Caañabe. Es de uso forrajero alternativo y empleado para leña. Los frutos son consumidos por los indios Chorote del Gran Chaco (Arenas y Scarpa 2007).

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1502 (FACEN).

Diatenopteryx sorbifolia* Radlk., Sitzungsber. *Math.-Phys. Cl. Königl.

Bayer. Akad. Wiss. München viii. (1878) 285.

Sin.: *Thouinia ornifolia* Griseb.

Nombre común: yvyra piñ

Familia: Sapindaceae

Especie escasamente representada en el área de estudio, atendiendo a que su presencia es más frecuente en la Cuenca del Paraná, donde forma distribución de tipo agrupada con pocos individuos.

Es usada como forrajera alternativa, como material para fabricación de herramientas, construcciones, muebles rústicos, es melífera, es aprovechada como leñas y postes.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1547 (FACEN).

***Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, *Annals of the New York Academy of Sciences* 7: 102. 1893.**

Sin.: *Acacia melalobiata* Rojas Acosta, *Calliandra pacara* Griseb., *Enterolobium glaucescens* Mart., *Feuillea pacara* (Griseb.) Kuntze, *Mimosa contortisiliqua* Vell., *Enterolobium timbouva* auct. non Mart.

Nombre común: timbó

Familia: Fabaceae

Se desarrolla en ambientes muy diversos, a veces formando parte del bosque alto y en ocasiones crece con el tronco en contacto con el agua. En el sitio estudiado forma parte del bosque en galería y se encuentra en forma muy abundante, sin embargo se encuentran algunas regeneraciones dentro del área que corresponde al matorral higrófilo. Es una especie cuyas hojas y frutos son forrajeras, es usada para fabricación de herramientas, en construcciones, para muebles, es melífera, se aprovecha como leña y postes; se

fabrican cajas mortuorias y botes; además es aprovechada como sombra y como ornamentales en los patios rurales, los lugareños usan como barbasco en la pesca. Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1543 (FACEN).

***Eugenia florida* DC.**, *Prodr. [A. P. de Candolle]* 3: 283. 1828.

Nombre común: perorebí

Familia Myrtaceae

Se desarrolla formando masas puras en los lugares pedregosos de los cursos de agua en el Alto Paraná; en el área de estudio su distribución es muy escasa y forma parte del bosque en galería. Bernardi (1985) menciona como especie silvestre que se encuentra en los bosques de colinas calcáreas del centro del país y también del este; parece algo escasa en Paraguay. Sus ramas son usadas como forrajeras alternativas, su fruto es comestible, es medicinal, melífera, además es aprovechada como leña y postes.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1516 (FACEN).

***Eugenia myrcianthes* Nied.**, *Nat. Pflanzenfam. [Engler & Prantl]* iii. 8 (1893) 79.

Sin.: *Eugenia edulis* Benth. & Hook. f. ex Griseb., hom. illeg., *Hexachlamys edulis* (O. Berg) Kausel & D. Legrand, *Myrcianthes edulis* O. Berg, *Hexachlamys excelsa* (Cambess.) Mattos, *Myrtus excelsa* Cambess.

Nombre común: aguará yva, yva hai ñu

Familia: Myrtaceae

Se presenta a veces en grupos de pequeños individuos y en ocasiones solitarios en los campos del Paraguay Central. Se encuentra

en orillas de ríos, lagos y en los bosques de la parte central del país (Bernardi, 1985). En el área de estudio forma parte del bosque en galería, pero está escasamente representada. Se utiliza como forrajera alternativa, es reportado en la zona como medicinal para el tratamiento de la diabetes. Lorca, Amat y González (1995) y Pirono *et al.* (2011) realizaron también estudios sobre sus propiedades antidiabéticas. El efecto hipoglucémico estaría relacionado a los flavonoides y taninos contenidos en el extracto de la planta citados por Perl (1988) y Middleton (1988) en Schmeda-Hirschman *et al.* (1996). Es usado como material para fabricación de herramientas y muebles rústicos, es melífera, se aprovecha como material para construcción, sombra, leña y postes.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1544 (FACEN).

***Eugenia uniflora* L.**, *Sp. Pl.* 1: 470. 1753.

Sin.: *Eugenia micheli* Lam., *Stenocalyx micheli* (Lam.) O. Berg, *Stenocalyx nhampiri* Barb. Rodr.

Nombre común: ñangapiry

Familia: Myrtaceae

Es un árbol con gran capacidad para cambiar de micro-ambientes con mucha facilidad, es resistente y se adapta a todas las condiciones del suelo que no estén sujetas a inundaciones permanentes, con versatilidad ecológica y extensa aplicación económica (GISD, 2011), crece preferentemente en lugares húmedos, cerca de ríos y riachuelos, pero pueden encontrarse también en serranías y en la sombra de árboles de gran tamaño (Bernardi, 1985). Es considerada como elemento de la sucesión secundaria de los

bosques, pero también ocupa el estrato superior de bosques maduros (Keller *et al.*, 2009). El sitio donde se encuentra esta especie se caracteriza por ser el que está menos sujeto a inundaciones periódicas, se observó que a lo largo del bosque en galería, en especial en los sitios más altos formaban una población predominante y abundante. En cuanto a su uso, se aprovecha como forrajera alternativa, como medicinal, su fruto es consumido por el hombre, es melífera según reportes de capataces, se usa como leña, postes, y sombras. Además es una especie relevante para la avifauna por sus frutos que son consumidos.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1517 (FACEN).

***Faramea cyanea* Müll. Arg., Flora 58: 473. 1875.**

Nombre común: mborevi rembi'u

Familia: Rubiaceae

Especie que forma parte del sotobosque y es tolerante a la sombra y frecuentemente observada formando agrupaciones puras. Es típica de los bosques en galería y zonas inundadas, cuya dispersión se incrementa en periodos de estación húmeda (Melo *et al.*, 2003), de matorrales húmedos pantanosos (Bernardi, 1985); cabe resaltar que este sitio está sometido a periodos inundables del A° Caañabé. Se usa como forrajera alternativa y suele ser plantada como ornamental; además la zoocoria en esta especie es común, constituyéndose las aves en sus dispersores naturales.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1507 (FACEN).

***Gleditsia amorphoides* (Griseb.) Taub., Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 10(10): 638. 1892.**

Sin.: *Garugandra amorphoides* Griseb.

Nombre común: yvopé

Familia: Fabaceae

Especie que se encuentra en el estrato medio de los bosques de la Región Oriental y del Chaco húmedo (López *et al.*, 1987). Es una especie de distribución aislada, carácter éste que se observa en el área de estudio. Se usa como forrajera, es medicinal, como material para elaboración de herramientas rústicas, para construcción, muebles rústicos, es melífera, se usa como leña y postes. Sus frutos son macerados y usados para el lavado de cabello.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1531 (FACEN).

***Guarea macrophylla* Vahl ssp. *spiciflora* (A. Juss.) T.D. Penn., Fl. Neotrop. Monogr. 28: 287 1981.**

Sin.: *Guarea balansae* C. DC., *Guarea dumetorum* C. DC., *Guarea spiciflora* A. Juss., *Guarea frutescens* C. DC., *Guarea leucantha* C. DC., *Guarea nemorensis* C. DC., *Guarea diversifolia* C. DC., *Guarea hassleri* C. DC., *Guarea hassleri* C. DC. var. *esulcata*, *Guarea angustifolia* C. DC., *Guarea ripicola* C. DC., *Guarea silvicola* C. DC., *Guarea subnudipetala* C. DC., *Guarea parvifoliola* C. DC., *Guarea fiebrigii* C. DC.

Nombre común: guaigui piré

Familia: Meliaceae

Se distribuyen en pequeños grupos cerca de los cursos de agua, en ocasiones sus ramas se extienden cubriendo parte del cuerpo de agua. Se presentan escasos individuos en el bosque en galería. En las

compañías de la localidad de Isla Cabrera del Departamento de Ñeembucú utilizan el extracto de la corteza de esta planta para el teñido artesanal del cuero de ovejas y darle la coloración a la lana. Las hojas de esta especie son utilizadas como saborizantes del agua para el tereré por la comunidad Mbya Guarani (Dujak *et al.*, 2015). En la zona se usa como forrajera alternativa, es melífera, se usa como leña y postes, sus semillas son consumidas por las aves.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1494 (FACEN).

Helietta apiculata Benth., *Hooker's Icones Plantarum* 14: 67. 1882.

Sin.: *Esenbeckia cuspidata* Engl., *Helietta longifoliata* Britton, *Helietta cuspidata* (Engl.) Chodat, *Helietta cuspidata* Engl. f. *gracilis*, *Helietta cuspidata* Engl. f. *latifolia*, *Helietta cuspidata* Engl. f. *subobtusata*

Nombre común: yvyrá oví guasú

Familia: Rutaceae

Especie heliófita, formando masas puras en el estrato superior de los bosques altos; en ocasiones se lo suele observar a orilla de los campos naturales y en las colinas del Paraguay Central. En la zona estudiada se encuentra en los remanentes de bosques en galería. Es forrajera alternativa, es medicinal, en la medicina tradicional la corteza es registrada como afrodisiaca (López *et al.* 1987), especie con gran potencial por su actividad comprobada para el tratamiento de leismaniasis (Ferreira *et al.* 2010), se usa como material para fabricación de herramientas rústicas en el campo y de carretas, se aprovecha en la construcción, para muebles rústicos, es melífera, se aprovecha para leña y postes.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1542 (FACEN).

Inga uraguensis Hook. & Arn., *Bot. Misc.* 3: 202. 1833.

Sin.: *Inga uraguensis* Hook. & Arn. var. *parvifolia*, *Inga uraguensis* Hook. & Arn. f. *tomentulosa*, *Feuilleea uruguensis* (Hook. & Arn.) Kuntze, *Inga vera* Willd. ssp. *uraguensis* (DC.) T.D. Penn.

Nombre común: ingá

Familia: Fabaceae

Es frecuente observarla en bosques en galería donde sus ramas cubren el espejo de agua como en el sitio estudiado; sin embargo en otras ocasiones es observado formando grupos bastante importantes en los bosques altos, su dispersión se ve fuertemente influenciada tanto por el ganado, la avifauna y el propio hombre; pues todos estos grupos consumen sus frutos. Tiene un arilo mucilaginoso y carnoso, que es un carácter evolutivo en la semilla para favorecer su dispersión por los diferentes predadores como las aves (Keiti *et al.* 2009), además de ser consumido por el ganado del sitio, es medicinal, es alimenticia por su fruto comestible, la raíz del inga se utiliza para adorno en la artesanía de ysyppo, el tallo se usa como material para elaboración de herramientas rústicas, construcciones, es melífera, se usa como leña, postes y sombras.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1523 (FACEN).

Maytenus ilicifolia Mart. ex Reissek, *Flora Brasiliensis* 11(1): 8, t 1. 1861.

Sin.: *Maytenus aquifolium* Mart., *Celastrus spinifolium* Larrañaga, *Maytenus hassleri*

Briq., *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek f. *angustior*, *Maytenus pilcomayensis* Briq.
Nombre común: cangorosa, yvyra rapó yú
Familia: Celastraceae

En la cuenca del Paraná se la observa formando pequeños grupos en el estrato medio del bosque, sin embargo en el área de estudio se encontró escasamente representado en los bosques en galería. Es utilizada como forrajera alternativa, como medicinal, leña y postes.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1537 (FACEN).

***Mimosa hexandra* Micheli**, *Mem. Soc. Helv. Sci. Nat.* xxx. (1889) n. 7, 91, t. 29.

Sin.: *Mimosa hexandra* Micheli var. *tropica*, *Mimosa vepres* Lindm., *Mimosa hexandra* Micheli var. *vepres*, *Mimosa acanthophora* Harms, *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze ssp. *hexandra* (Micheli) Hassl., *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze f. *micheliana*, *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze f. *vepres*, *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze var. *gymnocarpa*, *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze var. *hexandra*, *Mimosa coroncoro* Killip & Dugand, *Mimosa fascifolia* Rizzini

Nombre común: espinillo

Familia: Fabaceae

Es una especie que crece preferentemente a lo largo de los ríos (Paraguay y afluentes) y riachuelos; pero siempre en las riberas de los ríos, así como en lugares pantanosos. Está frecuentemente asociada a diferentes especies de *Celtis*. Hacker, Glatzle y Vanni (1996), consideran, según observaciones de campo, que especies de *Mimosa* poseen un alto potencial como forrajera en el Chaco. Muchas especies de *Mimosa* comparten tanto la Región

Oriental como la Occidental, como lo es el caso de *Mimosa hexandra*; no dejan de ser importantes las otras especies de *Mimosa* mencionadas en este trabajo, y utilizadas como forrajeras alternativas en épocas de deficiencia de pasturas, y que están presentes en cada parcela. En los sitios estudiados se observó una población importante y se lo encuentra en la zona del matorral higrófilo periódicamente inundado, los individuos son sometidos a cortes periódicos para ser utilizados como leña y postes, lo que controla de alguna manera su propagación, es muy consumida como forrajera alternativa, tanto como brotes de hojas, frutos verdes y maduros. También es considerada como una planta melífera

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1474 (FACEN).

***Mimosa pigra* L.**, *Cent. Pl.* I. 13. 1755.

Sin.: *Mimosa brasiliensis* Niederl., *Mimosa canescens* Willd., *Mimosa ciliata* Willd., *Mimosa hispida* Willd., *Mimosa polyacantha* Willd.

Nombre común: espinillo, yuquerí

Familia: Fabaceae

Especie típica de cursos de ríos y de cuerpos de agua de menor envergadura. Se lo puede encontrar igualmente además en cerros, ni pedregosos ni muy secos, en lugares pantanosos, lo que demuestra su gran plasticidad ecológica (Bernardi 1984). En el matorral higrófilo de la zona estudiada se observa como una especie pionera propia de los suelos arcillosos modificados (Mereles 2005), son sitios caracterizados por estar periódicamente inundados; sin embargo se identificaron algunos individuos dentro del bosque en galería. Son fácilmente propagados por el

hombre, animales y agua, los pelos también permiten a las vainas flotar con eficacia en el agua, lo que les permite dispersarse fácilmente aguas abajo y en las llanuras de inundación adyacentes a los ríos (LAND PROTECTION, 2007). Es muy utilizada como forrajera, melífera, leña y postes.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1505 (FACEN).

***Mimosa polycarpa* Kunth var. *spgazzeni* (Pirota ex Hook. f.) Burkart, *Darwiniana* 8: 151, fig. 23, P, ct. 1948**

Sin.: *Mimosa spgazzeni* Pirota ex Hook. f., *Mimosa pachecensis* S. Moore, *Mimosa polychaeta* Malme

Nombre común: espinillo

Familia: Fabaceae

Presenta distribución agrupada, constituyendo densas poblaciones casi puras en el matorral higrófilo del área estudiada. Es abundante en esta formación y según los lugareños, es una especie que tiende a ser invasora; aunque manejada adecuadamente puede compartir el área con el tapiz gramíneo, es utilizada como forrajera alternativa, además de proporcionar madera para poste, leña y sombra para el ganado, de acuerdo a referencias de informantes calificados del lugar.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1501 (FACEN).

***Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez, *Bull. Herb. Boissier*, sér. 2. 2. 824, 1903.**

Sin.: *Tetranthera megapotamica* Spreng., *Nectandra briquetii* Hassl., *Nectandra membranacea* Hassl., hom. illeg., *Nectandra membranacea* (Sw.) Hassl. var.

saligna, *Nectandra membranacea* (Sw.) Hassl. f. *floribunda*, *Nectandra saligna* Nees & Mart., *Nectandra saligna* Nees & Mart. var. *obscura*, *Nectandra tweediei* (Meisn.) Mez, *Oreodaphne tweediei* Meisn. Nombre común: aju' y hú, laurel hú

Familia: Lauraceae

Es abundante en los bosques altos de la Cuenca del Río Paraná donde forma parte del segundo estrato (Ortega, Stutz de Ortega y Spichiger 1989). En la zona estudiada su presencia no es abundante pero cuando está presente forma parte del estrato superior del bosque en galería. Es forrajera alternativa, su madera se utiliza como material para construcción de herramientas, muebles y casas rústicas, es melífera y se usa como leña y postes.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1515 (FACEN).

***Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan, *Kew Bull.* 17(2): 228. 1963**

Sin.: *Acacia angico* Mart., *Piptadenia rigida* Benth., *Piptadenia rigida* Benth. var. *grandis*

Nombre común: kurupa' y ra

Familia: Fabaceae

Especie heliófita propia de bosques altos de la Región Oriental tanto en la Cuenca del Paraná como del Paraguay (López *et al.*, 1987). En la zona estudiada se lo encontró en forma aislada en el bosque en galería. Se utiliza como forrajera alternativa, es de uso medicinal, se aprovecha como material para fabricación de herramientas y muebles rústicos, para construcción, es melífera, se usa para leña y postes.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1536 (FACEN).

***Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.,** *Nat. Pflanzenfam.* 3(3). 176. 1892.

Sin.: *Caesalpinia dubia* Spreng., *Peltophorum vogelianum* Benth., *Brasilettia dubia* (Spreng.) Kuntze, *Peltophorum vogelianum* Benth. f. *glabrata*, *Peltophorum vogelianum* Benth. f. *ferruginea*, *Peltophorum vogelianum* Benth. f. *intermedia*

Nombre común: yvyrá pytá

Familia: Fabaceae

Es una especie heliófila y es pionera en los campos abiertos y matorrales (López *et al.* 1987). Es frecuente en ambas vertientes de los Ríos Paraná y Paraguay, pero menos frecuente en el primero formando el estrato superior; sin embargo, es abundante en la Cuenca del Río Paraguay donde su talla es de menor porte. Se encontró pocos individuos dentro del bosque en galería y del matorral higrófilo. Se usa como forrajera alternativa en etapa arbustiva sin alcanzar su total desarrollo, es medicinal, la madera se aprovecha para fabricación de herramientas, construcciones y muebles rústicos, es melífera, se usa como leña y postes.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1548 (FACEN).

***Pilocarpus pennatifolius* Lem.,** *Jard. Fleur.* iii. (1852-53) t. 263.

Sin.: *Pilocarpus selloanus* Engl., *Pilocarpus pennatifolius* Lem. var. *selloanus*, *Pilocarpus selloanus* Engl. var. *gracilis*, *Pilocarpus selloanus* Engl. f. *brevipedicellata*, *Pilocarpus pennatifolius* Lem. var. *genuinus*, *Pilocarpus pennatifolius* Lem. f. *typicus*, *Pilocarpus pennatifolius* Lem. f. *gracilis*, *Pilocarpus pennatifolius* Lem. f. *latifoliolatus*, *Pilocarpus pennatifolius* Lem. f.

brasiliensis, *Pilocarpus pennatifolius* Lem. f. *intermedius*, *Pilocarpus pennatifolius* Lem. f. *paraguariensis*

Nombre común: yvyrá tai

Familia: Rutaceae

Según Spichiger y Stutz de Ortega (1987), es frecuente en sotobosque, bosque de galería y márgenes de bosques. Es una especie que forma parte del estrato inferior en los bosques altos de la Cuenca del Paraná, formando pequeñas comunidades puras; sin embargo en el área de estudio fue escasamente representada dentro del bosque en galería. Se usa como forrajera alternativa, es medicinal; las hojas se usan como apósito para curar llagas de la leishmaniosis (Spichiger y Stutz de Ortega 1987). Sus semillas son usadas en artesanía en la elaboración de collares. Es además melífera.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1528 (FACEN).

***Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel,** *Ark. Bot.* ser. 2, 3: 507. 1956

Sin.: *Eugenia cauliflora* Miq., hom. illeg., *Myrciaria trunciflora* O. Berg, *Myrciaria peruviana* (Poir.) Mattos var. *trunciflora*

Nombre común: yvapurú

Familia: Myrtaceae

Es muy frecuente en la toposecuencia ondulada del Paraguay Central, frecuentemente se encuentra en colinas pedregosas, en el área de estudio sin embargo fue frecuentemente encontrada en el bosque en galería. Es forrajera alternativa, medicinal, su fruto es comestible, la madera es utilizada como mangos para herramientas, es melífera, se usa como leña y postes.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1492 (FACEN).

***Prockia crucis* P. Browne ex L., *Systema Naturae, Editio Decima* 2: 1074. 1759.**

Sin.: *Prockia crucis* P. Browne ex L. var. *septemnervia*, *Prockia grandiflora* Herzog, *Prockia hassleri* Briq., *Prockia septemnervia* Spreng., *Prockia glabra* Briq.

Nombre común: desconocido para los informantes.

Familia: Salicaceae

Se lo encuentra en las formaciones arbustivas y en las márgenes de bosquecillos, de ríos y de riachuelos (Bernardi 1985); es propia de formaciones degradadas (Soloaga, Cottier y Spichiger 2000). En el sitio estudiado es una especie que se encuentra formando parte del estrato inferior de los bosques en galería y en ocasiones en lugares abiertos. Su presencia no es muy abundante en el área de estudio. Es adaptada a todo tipo de suelo y poco exigente a las condiciones climáticas. Es forrajera, melífera y se aprovecha como leña y postes.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1498 (FACEN).

***Psidium guajava* L., *Sp. Pl.* 1: 470. 1753**

Sin.: *Psidium guava* Raddi ex Griseb., *Psidium guayaba* Raddi, *Psidium pyriferum* L., *Psidium igatemyense* Barb. Rodr.

Nombre común: arasá

Familia: Myrtaceae

Especie que crece en campos, pastizales, así como en orilla de bosques, bosques de colinas y serranías, orillas de riachuelos en el centro y este del país (Bernardi 1985) y

lugares como bosquetes incluidos. Se encuentra en el bosque en galería sobre el A° Caañabé. Se utiliza como forraje alternativo, es medicinal, por sus frutos es alimenticio, el tallo se aprovecha en artesanía aprovechando las ramas jóvenes se usa en el medio rural como soporte de resortera (hondita), fabricación de trompo (un tipo de perinola artesanal) y también para fabricación de herramientas pequeñas, es melífera, se usa como leña y postes.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1551 (FACEN).

***Randia armata* (Sw.) DC., *Prodr.* [A. P. de Candolle] 4: 387. 1830**

Nombre común: ñuatí curuzú

Familia: Rubiaceae

Es una especie de lugares secos y calcáreos en el centro y norte del país y cerca de los ríos y riachuelos, según Bernardi (1985). Se encuentran algunos individuos en el bosque en galería sobre el A° Caañabe y un poco más abundante en el matorral higrófilo. Es forrajera alternativa, es melífera y se usa como leña.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1495 (FACEN).

***Sebastiania brasiliensis* Spreng., *Neue Entdeck. Pflanzenk.* 2: 118. 1821.**

Sin.: *Sebastiania anisandra* (Griseb.) Lillo, *Dactylostemon anisandrus* Griseb., *Actinostemon anisandrus* (Griseb.) Pax, *Sebastiania brasiliensis* Spreng. var. *ramosissima*, *Microstachys ramosissima* A. St.-Hil., *Sebastiania brasiliensis* Spreng. var. *genuina*, *Actinostemon luquense* Morong

Nombre común: yvyrá camby

Familia: Euphorbiaceae

Especie propia de sitios próximos a cursos de agua y zonas expuestas a inundaciones (Ortega T., Stutz de Ortega y Spichiger 1989). En el sitio estudiado forma parte del bosque en galería. Se aprovecha como forrajera, medicinal, leña y postes. En medicina popular mencionado por los informantes de la zona se usa el látex pegado a la hoja para matar larvas en la piel por asfixia (ura), esto se cita además en Martínez Crovetto (2012).

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1550 (FACEN).

***Sesbania virgata* (Cav.) Pers., Syn. Pl. [Persoon] 2(2): 316. 1807.**

Sin.: *Aeschynomene virgata* Cav., *Coronilla virgata* (Cav.) Willd., *Sesbania marginata* Benth., *Coursetia virgata* (Cav.) DC.

Nombre común: caferá

Familia: Fabaceae

Es una especie pionera de suelos arcillosos y arenosos, muy característica de zonas degradadas y embalsados. La semilla es muy resistente a condiciones desfavorables, razón por la cual presenta buena capacidad de germinación. Forma parte del matorral higrófilo en las adyacencias del A° Caañabe. Se aprovecha como forrajera alternativa y como leña.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1581 (FACEN).

***Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, Fieldiana, Bot. xxxi. 382 (1968).**

Sin.: *Arecastrum romanzoffianum* (Cham.) Becc., *Arecastrum romanzoffianum* (Cham.) Becc. var. *australe*, *Cocos australis* Mart., *Cocos datil* Drude &

Griseb., *Cocos romanzoffiana* Cham., *Arecastrum romanzoffianum* (Cham.) Becc. var. *genuinum*, *Cocos arechavaletana* Barb. Rodr., *Cocos romanzoffiana* Cham. var. *macropindo*, *Cocos acrocomoides* Drude, *Cocos geriba* Barb. Rodr., *Cocos martiana* Drude, *Cocos plumosa* Hook. f.

Nombre común: pindó

Familia: Arecaceae

Es una palma característica de bosques altos, en el sitio estudiado se encuentran muy pocos individuos dentro del bosque en galería. Algunas parcialidades nativas fabrican arcos de la madera de esta especie, así como fibras para confección de ropas, redes, cestería, los monos y otros animales silvestres comen los frutos (López et al. 1987). Las plántulas se utiliza como forraje, medicinal, es alimenticia por los frutos y cogollos que son comestibles, de uso artesanal, construcción, melífera, postes.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1489 (FACEN).

***Terminalia triflora* (Griseb.) Lillo, Contr. Arb. Argent. 20. 1910.**

Sin.: *Chuncoa triflora* Griseb., *Myrobalanus balansae* Kuntze, *Terminalia balansae* (Kuntze) K. Schum., *Terminalia hassleriana* Chodat, *Terminalia balansae* (Kuntze) Hassl., comb. superfl., *Myrobalanus triflora* (Griseb.) Kuntze, *Terminalia hassleriana* Chodat var. *bernardiensis*

Nombre común: yvyrá sa'y jú, guayaibi sa'y yú

Familia: Combretaceae

Habita sitios abiertos, húmedos y las orillas de los ríos, arroyos y lagunas de la R. Oriental y del Chaco húmedo (López et al. 1987). En el área estudiada se encuentra

escasamente representado en el bosque en galería. Se usa como forrajera, como mango para herramientas, para construcciones, melífera, postes y leñas. Muschiatti *et al.* (2005) menciona como una especie con posible actividad antifúngica.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1549 (FACEN).

***Trichilia catigua* A. Juss., Fl. Bras. Merid. (A. St.-Hil.). ii. 77.**

Sin.: *Trichilia affinis* A. Juss., *Trichilia alba* Rojas Acosta, nom. nud., *Trichilia catigua* A. Juss. var. *longifolia*, *Trichilia catigua* A. Juss. var. *pallens*, *Trichilia polyclada* C. DC.

Nombre común: catiguá pyta

Familia: Meliaceae

Es una especie característica de los bosques del centro y del este, en las Cuencas del Paraguay y del Paraná (Bernardi 1985). Se observó una población importante de la especie en el bosque en galería. Es forrajera alternativa, medicinal, artesanal, mangos de herramientas, melífera, leña, postes y la corteza ha sido empleada desde antaño para curtir pieles, principalmente de animales silvestres de pequeña talla. Se trata de una especie con alta significancia medicinal y maderable (Valmorbida *et al.*, 2008).

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1533 (FACEN).

***Zanthoxylum petiolare* A. St.-Hil. & Tul., Ann. Sci. Nat., Bot. sér. 2, 17: 140. 1842.**

Sin.: *Zanthoxylum naranjillo* Griseb., *Fagara hieronymi* Engl., *Fagara paraguariensis* Chodat & Hassl., *Fagara naranjillo* (Griseb.) Engl. var. *angustifolia*,

Fagara naranjillo (Griseb.) Engl., *Fagara niederleinii* Engl., *Fagara paraguariensis* Chodat & Hassl. f. *angustifolia*, *Fagara naranjillo* (Griseb.) Engl. var. *paraguariensis*, *Fagara rhoifolia* (Lam.) Engl. var. *niederleinii*, *Zanthoxylum naranjillo* Griseb. var. *angustifolium*, *Zanthoxylum paraguariensis* (Chodat & Hassl.) Standl., *Fagara paraguariensis* Chodat & Hassl. f. *fruticosa*, *Fagara paraguariensis* Chodat & Hassl. f. *latifolia*
Nombre común: tembetary morotí

Familia: Rutaceae

Forma parte de bosques primarios y secundarios, márgenes de bosques, de ríos y caminos, matorrales y en bosquecillos dispersos en los campos (Spichiger & Stutz de Ortega, 1987). En la zona aledaña al Caañabe se localizó esta especie específicamente en el bosque en galería pero en forma muy escasa. Es forrajera alternativa, medicinal, melífera, se aprovecha para leña y postes.

Material de referencia: Paraguairí, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1503 (FACEN).

***Zanthoxylum riedelianum* Engl., Ann. Sci. Nat., Bot. sér. 2, 17: 140. 1842.**

Syn.: *Fagara riedeliana* (Engl.) Engl., *Fagara riedeliana* (Engl.) Engl. var. *pubescens*, *Fagara cuyabensis* (Engl.) Engl., *Zanthoxylum cuiabense* Engl.

Nombre común: tembetary sa'yú

Familia: Rutaceae

Especie de distribución aislada, escasamente representado en bosques claros, borde de bosques, bosques en galería próximos al A° Caañabé, a veces en suelos arenosos (Spichiger y Stutz de Ortega, 1987), sin embargo, se la ha encontrado en suelos planos, arcillosos, periódicamente inundables pero con una

condición de déficit hídrico en gran parte del año. Es de uso forrajero, medicinal, mangos de herramientas agrícolas, construcciones, melífera, leña y postes.

Material de referencia: Paraguari, alrededores del A° Caañabe. Estancia Las Rosas. B. B. F. 1504 (FACEN).

CONCLUSIONES

La zona estudiada es principalmente ganadera, donde se observó la degradación intensiva de los bosques en galería que protegen el suelo, en especial a lo largo de los cursos de agua. Los remanentes son fuente importantes de recursos para los pobladores próximos al A° Caañabé, lo que les sitúa como actores importantes tanto en la degradación y en la conservación. Se pudo observar que el principal aprovechamiento que realizan de las especies se encuadra al tipo de actividad de la población que es la ganadera; se observó que el mayor uso lo hacen de las forrajeras, las que se aprovechan como leña, melíferas y para la fabricación de postes. De los tipos de usos mencionados los más frecuentes son en orden de importancia: las forrajeras, las que son usadas como leña, las melíferas, las de uso Artesanal, además de las que son usadas para la fabricación de postes, seguido de otros usos en menor escala.

Se observa además la necesidad de implementar programas de conservación bajo un modelo de uso sustentable, para asegurar la disponibilidad de recursos para las futuras generaciones.

REFERENCIAS

Arenas, P.; Scarpa, G. 2007. Edible wild plants of the Chorote Indians, Gran

Chaco, Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2007, 153, 73–85.

Benítez, B.; Céspedes, G.; González, F.; Bertoni, S. 2006. Uso artesanal del caranda'y, *Copernicia alba* Morong, en Limpio, Central, Paraguay. Aspectos biológicos y socioeconómicos. *Investigaciones y estudios de la UNA* 2. 2° semestre. 143-156.

Benítez, B.; Bertoni, S.; Pérez, S.; González, F. 2008. Principales especies medicinales comercializadas en los mercados del Departamento de Paraguari. Diversidad y determinación de la Importancia Relativa. *Rojasiana* Vol. 8 (1): 49-65.

Benítez, B.; Pereira S., C.; González G., F.; Bertoni, S. 2011. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. (coco, mbocaya), una especie de uso múltiple en el Paraguay. *Steviana* Vol. 3: 69-83.

Bernardi, L. 1984. Contribución a la Dendrología Paraguaya. Primera Parte. *Boissiera*, Vol. 35. *Memories de botanique systématique*. Genève. 341 pp.

Bernardi, L. 1985. Contribución a la Dendrología Paraguaya. Segunda Parte. *Boissiera*, Vol. 37. *Memories de botanique systématique*. Genève. 294 pp.

Cabrera, A.L.; Willink, L. 1973. Biogeografía de América Latina. OEA, Washington, DC. Serie Biología Monografía N° 13. 120 pp.

Dujak, M.; Ferrucci, M.S.; Vera Jiménez, M.; Pineda, J.; Chaparro, E.; Brítez, M. 2015. Registros sobre las especies vegetales alimenticias utilizadas por dos comunidades indígenas Mbyá - Guaraní de la Reserva para Parque Nacional San Rafael, Itapúa – Paraguay. *Steviana*, Vol. 7: 25-47.

- FAO-DIA-MAG. 2008. Informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación. Paraguay. Segundo Informe Nacional. 103 pp.
- Ferreira M.E.; de Arias, A.R.; Yaluff, G.; de Bilbao, N.V.; Nakayama, H.; Torres, S.; Schinini, A.; Guy, I.; Heinzen, H.; Fournet, A. 2010. Antileishmanial activity of furoquinolines and coumarins from *Helietta apiculata*. *Phytomedicine*. 17(5):375-8. doi: 10.1016/j.phymed.2009.09.009. Epub 2009 Oct 29.
- Ferrucci, S. 1991. Sapindaceae. En: *Flora del Paraguay*. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Geneve-Missouri Botanical Garden. 144 pp.
- Flora del Cono Sur. 2016. En: <http://www2.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/BuscarEspecies.asp>
- GISD (Global invasive species database). 2011. *Eugenia uniflora* (tree, shrub). En: <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?fr=1&si=983&sts=17-09-2011.15:26>.
- Guaglianone, R.E.; Novara, L.J. 1999. Flora del Valle de Lerma, Familia Combretaceae. *Aportes Botánicos de Salta – Ser. Flora*. Herbario MCNS Facultad de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Salta. Buenos Aires, Argentina. Vol. 6 (1): 1-7
- Hacker, J.B.; Glatzle, A.; Vanni, R. 1996. Paraguay a potential source of new pasture legumes for the subtropics. *Tropical Grasslands*. Vol. 30, 273-281.
- IUCN. 2008. Diseñando un futuro sostenible. Programa de la UICN 2009–2012. Gland, Suiza. 36pp.
- Keiti, N.D.; Petine, N.G.; Bagnatori, S.A.L. 2009. Florística e síndromes de dispersão de espécies arbóreas em remanescentes de Chaco de Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rodriguésia* 60 (2): 353-365.
- Keller, H. 2009. Plantas textiles de los Guaraníes de Misiones, Argentina. *BONPLANDIA* 18(1): 29-37.
- Keller, H. 2010. Plantas usadas por los guaraníes de Misiones (Argentina) para la fabricación y el acondicionamiento de instrumentos musicales. *DARWINIANA* 48(1): 7-16.
- López, J.A.; Little, E.L.; Rombold, J.S.; Hahn, W.J. 1987. Árboles comunes del Paraguay-Ñande yvyra mata kuera. Cuerpo de Paz. 425 p.
- Lorca, G.G.; Amat, A.G.; González, C. 1995. Análisis Comparativo de Caracteres Diagnósticos para la Identificación de Tres Especies Argentinas de Myrtaceae empleadas en la Medicina Popular. *Acta Farm. Bonaerense* 14 (2): 81-6
- Martinez Crovetto, R.N. 2012. Estudios etnobotánicos v. nombres de plantas y su utilidad según los Mbya Guaraní de Misiones, Argentina. *Bonplandia* 21 (2): 109-133.
- Melo, C.; Bento, E.C.; Oliveira, P.E. 2003. Frugivory and dispersal of *Faramea cyanea* (Rubiaceae) in Cerrado woody plant formations. *Braz. J. Biol.* [online]. vol.63, n.1, pp. 75-82. ISSN 1519-6984. En: <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842003000100010>.
- Mereles, M.F. 2005. Aportes al conocimiento de la flora y las comunidades vegetales en la cuenca del lago Ypoá, región Oriental, Paraguay. Temas de la Biodiversidad del Litoral fluvial argentino II. INSUGEO, Misceláneas, 14: 150-168.

- Muschietti L.; Derita M.; Sulsen, V.; Muñoz, J. de D.; Ferraro, G.; Zacchino, S.; Martino, V. 2005. In vitro antifungal assay of traditional Argentine medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 102 (2005) 233–238
- Ortega T., E.; Stutz de Ortega, L.; Spichiger, R. 1989. Noventa especies forestales del Paraguay. En: *Flora del Paraguay*. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Geneve-Missouri Botanical Garden. 218 p.
- Pirondo, A.; Coulleri, J.P.; Keller, H.A.; Ferrucci, M.S. 2011. Influencia de factores externos sobre la comercialización de plantas medicinales en un medio urbano: el caso de vendedores criollos e indígenas en Corrientes, Argentina. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 10 (6): 553 - 569 ISSN 0717 7917
- Schmeda-Hirschmann y J. Zúñiga. 1996. Xanthine Oxidase Inhibitory Activity Of Flavonoids and Tannins from *Hexachlamys edulis* (Myrtaceae). *PHYTOTHERAPY RESEARCH*, VOL. 10, 260-262.
- Soloaga, M.; Cottier, E.; Spichiger, R. 2000. Flacourtiaceae. En: *Flora de Paraguay*. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Geneve-Missouri Botanical Garden. 60 pp.
- Spichiger, R.; Mascherpa, J.M. 1983. Annonaceae. En: *Flora de Paraguay*. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Geneve-Missouri Botanical Garden. 45 pp.
- Spichiger, R.; Stutz de Ortega, L. 1987. Rutaceae. En: *Flora de Paraguay*. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Geneve-Missouri Botanical Garden. 50 pp.
- Spichiger, R.; Bertoni, B.S.; Loizeau, P.A. 1992. The forests of the Paraguayan Alto Paraná. *Candollea* 47: 219-150.
- Spichiger, R.; Palese, R.; Chautems, A.; Ramella, L. 1995. Origin, affinities and diversity hot spots of the Paraguayan dendrofloras. Conservatoire et Jardin Botaniques de Geneve, *Candollea*, 50 (2): 515-537.
- Schvartzman, J.; Santander, V.M. 1996. Paraguay: informe nacional para la conferencia tecnica internacional de la FAO sobre los recursos fitogenéticos. 86p.
- Stevens, P. F. 2001. Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012 [and more or less continuously updated since]." will do. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- The Plant List. 2013. Version 1.1. Published on the Internet; En: <http://www.theplantlist.org/> (accessed 1st January).
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 09 Aug 2016. En: <http://www.tropicos.org>
- Valmorbida, J.; Fernández Boaro, C. S.; Oliveira Lessa, A.; Rodrigues A. Salerno. 2008. Enraizamiento de estacas de *Trichilia catigua* A. Juss (catigua) em diferentes estações do ano. *Revista Árvore*, Vol. 32, Núm. 3, mayo-junio. pp. 435-442.

Embriogénesis cigótica *in vitro* de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd ex Mart. en medios con bencilaminopurina y carbón activado

Fiori Fernández, C.¹; Díaz Lezcano, M.I.²; González Segnana, L.R.²

¹Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT), San Lorenzo

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Agrarias, Carrera de Ingeniería Forestal, San Lorenzo

³Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Agrarias, Carrera de Ingeniería Agronómica, San Lorenzo

E mail del autor: c_fiori88@hotmail.com

Embriogénesis cigótica *in vitro* de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd ex Mart. en medios con bencilaminopurina y carbón activado. El objetivo fue lograr la embriogénesis cigótica *in vitro* de *A. aculeata* en medios Murashige & Skoog (MS) con diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP) y carbón activado (CA). El diseño utilizado fue completamente al azar. Los tratamientos consistieron en medios MS con 1, 2 y 4 mg.L⁻¹ de (BAP), medios con 2 g.L⁻¹ de CA y MS. Se utilizaron 45 embriones cigóticos de *A. aculeata* cultivados inicialmente en MS con 2 g.L⁻¹ de CA posteriormente subcultivados en medios MS con BAP 1, 2 y 4 ppm, 2 g.L⁻¹ de CA y MS. Se analizó el desarrollo de hojas. Se aplicaron Kruskal-Wallis y Mann-Whitney ($p < 0,05$). No existió diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$), se suprimió la latencia en semillas obteniéndose plantines en 40 días.

Palabras clave: *Acrocomia aculeata*, bencilaminopurina, carbón activado, embrión cigótico

Effect of different concentrations of benzylaminopurine (BAP) on *in vitro* embryogenesis of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd ex Mart. This study aimed to assess the effect of BAP on zygotic embryogenesis of *A. aculeata*. The design was completely random. Treatments consisted of MS media with 1, 2 and 4 mg.L⁻¹ of benzylaminopurine (BAP), media with 2 g.L⁻¹ of activated carbon (AC) and MS. 45 zygotic embryos of *A. aculeata* initially grown in MS with 2 g.L⁻¹ of CA subsequently subcultured in MS media with BAP 1, 2 and 4 ppm, 2 g.L⁻¹ CA and simple MS were used. Leaf development was analyzed. Kruskal-Wallis and Mann-Whitney ($p < 0,05$) were applied. There was no significant difference between treatments ($p > 0,05$), latency was suppressed in seeds, and seedlings developed in 40 days.

Keywords: *Acrocomia aculeata*, benzylaminopurine, activated carbon, zygotic embryo

INTRODUCCIÓN

Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd ex Mart. es una especie originaria de la vegetación de Paraguay y Brasil y se encuentra ampliamente distribuida en todo el territorio nacional como también en gran parte de América Tropical y Subtropical, encontrándose registradas también en

regiones de América Central (Crocomo y Melo, 1996; Sorol *et al.*, 2012).

Es una palmera cuyo estípite puede llegar a medir entre 10 a 15 m de altura con un diámetro de 20 a 30 cm. La región de los nudos está cubierta de espinos oscuros, puntiagudos de aproximadamente 10 cm de longitud, frecuentemente su estípite es revestido por la base de los

peciolos que permanecen adheridas a esta. Las hojas son verdes, ordenadas en diferentes planos, son espinadas midiendo entre 4 a 5 m, presentando aproximadamente 130 foliolos en cada lado de la región central (Lorenzi *et al.*, 1996.; Silva, 2005 mencionados en Schmidt, 2008).

En Paraguay es comúnmente conocida como *mbokaja* y generalmente sus frutos son usados como alimento en su estado natural, en especial en algunas culturas nativas, también es empleada para tratar enfermedades respiratorias, como laxantes, analgésicos, propiedades reconstituyentes, también es empleado como forraje para la alimentación de animales, como postes y techos y el carozo para combustible de calderas (FAO, 2002; Lima *et al.*, 2008; Traesel *et al.*, 2015). La Industria de jabones, detergentes y cosméticos nacionales utilizan el aceite de pulpa y almendra extraídos de plantaciones nativas (MAG, 2008).

Crece en forma natural en áreas abiertas del Cerrado y en las áreas más secas de los pastizales y esteros del sur (McDonald, 2007). Otra de sus potencialidades radica en que el endospermo de los frutos de *A. aculeata* posee una considerable cantidad de lípidos, proteínas y polisacáridos en su pared celular de almacenamiento, estos lípidos insaturados representan una excelente materia prima para la industria energética, siendo utilizados en el proceso de elaboración de aceite para biodiesel (Alang *et al.*, 1988; Demason, 1988; Aguiar y Mendonça, 2003; Panza *et al.*, 2004).

El potencial aceitero que posee tanto la almendra como la pulpa, representa un elevado valor en términos energéticos de alrededor de 35%, siendo ésta característica esencial para la producción

de biocombustible considerando un rendimiento en el fruto de 2500 a 4000 kg.ha⁻¹ (Teixeira, 2005; Pereira *et al.*, 2015). Souto (2008) menciona que de una hectárea es posible obtener aproximadamente 4000 litros de aceite, producción considerablemente mayor comparada con otros cultivos también aceiteros como el aguacate (*Persea americana*), ricino (*Ricinus communis*), colza (*Brassica napus*), maní (*Arrachis hipogaeae*), girasol (*Helianthus annuus*), tung (*Aleurites fordii*) y soja (*Glicine max*).

Sin embargo, *A. aculeata* presenta inconvenientes en la germinación de sus semillas ocasionando una lentitud, bajo porcentaje de germinación y pérdida de viabilidad por deshidratación debido a la latencia retardando la germinación entre uno a dos años (Caldas, 2006; González, 2010) constituyéndose de esta manera un factor muy limitante y restrictivo en la producción y rendimiento de la especie (Neto *et al.*, 2014). Cabe señalar que su cultivo fue declarado de interés nacional en el año 2005 debido a su valor económico, impulsando de esa manera una serie de investigaciones que posibiliten una exitosa domesticación de la especie (Sorol *et al.*, 2012).

La latencia es el estado en el cual una semilla viable no germina, aunque las mismas sean expuestas a condiciones de humedad, temperatura, luz y concentración de oxígeno ideales para hacerlo (Doria mencionado en Martínez *et al.*, 2013). Este fenómeno puede deberse a sustancias químicas inhibitoras entre las cuales se encuentran el ácido abscísico y la cumarina presentes en el endospermo de algunas semillas, las mismas dificultan la reacción del embrión retardando su germinación

(Schmidt, 2008; Bewley mencionado en Da Silva *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2012). En los últimos tiempos fueron varios los estudios realizados con el objetivo de romper la latencia de las semillas y posibilitar una efectiva aclimatación y desarrollo de la especie (Monteiro *et al.*, 2012; Gonçalves *et al.*, 2013)

Un procedimiento eficaz y sencillo que puede dar solución a las técnicas convencionales de germinación cuyas productividades son muy bajas y en ocasiones nulas es el método de propagación *in vitro* de embriones, removiendo la misma y proporcionándole los medios físicos y químicos para su desarrollo posibilitando de este modo su desarrollo y crecimiento independientemente de la edad, tamaño y estadio de desarrollo en que fue escindido (Rocha, 1998; Castilla, 2012; Fiori *et al.*, 2016).

Específicamente consiste en aislar embriones de los óvulos de una planta y cultivarlos en un medio estéril que contenga nutrientes esenciales que les permita concluir su desarrollo normal y por ende germinar, es relativamente fácil de llevar a cabo en embriones maduros y sus posibilidades de éxito son bastante altas (Cardone *et al.*, 2010).

La técnica de rescate y multiplicación de embriones *in vitro* constituyen una solución alternativa y complementaria para el sector forestal a corto plazo, demostrando que ésta técnica es importante para los programas de protección y conservación de especies que presentan dificultades de propagación sexual, viabilidad y escasez de semillas, cruzamientos interespecíficos, latencia prolongada y recalcitrancia (Shibu y Guillespie, 1998; Benson, 2000).

El objetivo principal del trabajo consistió en establecer un protocolo que posibilite la embriogénesis cigótica de *Acrocomia aculeata* en medios de cultivo Murashige & Skoog con diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP) y carbón activado (CA).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología del Departamento de Producción Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción situada en la ciudad de San Lorenzo, Paraguay.

Población y fuente de explantes

Se utilizaron embriones cigóticos provenientes de frutos maduros de *A. aculeata* (Fig. 1A) colectados de diez individuos de las cuales se extrajeron diez frutos por planta madre, siendo éstas posteriormente secados a temperatura ambiente durante veinte días para facilitar la eliminación del pericarpio y posibilitar la obtención de las almendras con la ayuda de una prensa manual. Del lote total de 100 frutos, fueron seleccionados al azar 50 frutos considerando criterios como tamaño uniforme, ausencia de daños mecánicos causados por insectos y posibles signos de infecciones ocasionadas por patógenos.

Desinfestación de almendras

Antes de la extracción de los embriones las almendras fueron desinfectadas superficialmente (Fig. 1B) con solución de etanol al 90% durante 4 minutos seguido de una inmersión en hipoclorito de sodio al 20% por 20 minutos. Finalmente se efectuó un triple enjuague con agua

destilada esterilizada sumergiendo las almendras acompañadas de leves agitaciones durante un tiempo de tres minutos. Esta operación se repitió tres veces con el objetivo de eliminar excedentes de soluciones de etanol e hipoclorito que pudieran arrastrar las almendras, todo el proceso se llevó a cabo dentro de la cámara de flujo laminar de aire estéril.

Incisión de almendras

Las almendras desinfectadas inmediatamente fueron depositadas en placas de Petri esterilizadas y con el empleo de un bisturí y pinza de puntas finas se realizaron dos incisiones a los lados de cada almendra, en la zona media, tomando como referencia el punto de inserción del embrión el cual es ligeramente prominente, la segunda incisión fue acompañada con una torsión lateral para facilitar la fisión y de esa manera extraer el embrión de su interior (Fig. 1C).

Tratamientos y unidad experimental

Luego de la de extracción, los embriones fueron cultivados inicialmente en medios MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementados con carbón activado (CA) a razón de 2 g.L⁻¹ y expuestos a oscuridad inicial por 20 días. La ubicación de los embriones dentro de los frascos fue de la misma forma en que se encontraban en las almendras (posición vertical).

Después de producirse la germinación, luego de los 20 días de cultivo en MS con CA 2 g.L⁻¹ e incubación en oscuridad, los mismos fueron subcultivados en los cinco

tratamientos consistentes en: T₁ (control) = MS, T₂ = MS con 2 g.L⁻¹ de CA, T₃ = MS con 1 mg.L⁻¹ de BAP, T₄ = MS con 2 mg.L⁻¹ de BAP y T₅ = MS con 4 mg.L⁻¹ de BAP y expuestos a fotoperiodo constante de 16 horas de luz a 24 ± 1 °C. La unidad experimental estuvo conformada por tres frascos con un embrión cigótico cada uno totalizando de esa forma 45 embriones cultivados en total.

Variable

La variable analizada durante el proceso experimental consistió en la medición de la longitud de las hojas (cm) generadas por los embriones cigóticos sembrados *in vitro*. Para dicha operación se utilizó una regla milimetrada realizándose la medición luego del subcultivo de los embriones contenidos inicialmente en medios MS con CA a razón de 2 g.L⁻¹ en los diferentes tratamientos. Posterior al subcultivo se estableció un total de 40 días de medición divididos en dos períodos de 20 días.

Diseño experimental

El trabajo consistió en un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y tres repeticiones. Para la observación de efectos entre tratamiento se aplicó la prueba de Krukal – Wallis y la prueba de Mann – Whitne (p<0,05) y para diferenciación entre comparaciones pareadas previa comprobación de normalidad en la distribución por Shapiro-Wilk con la ayuda del paquete estadístico Past®.

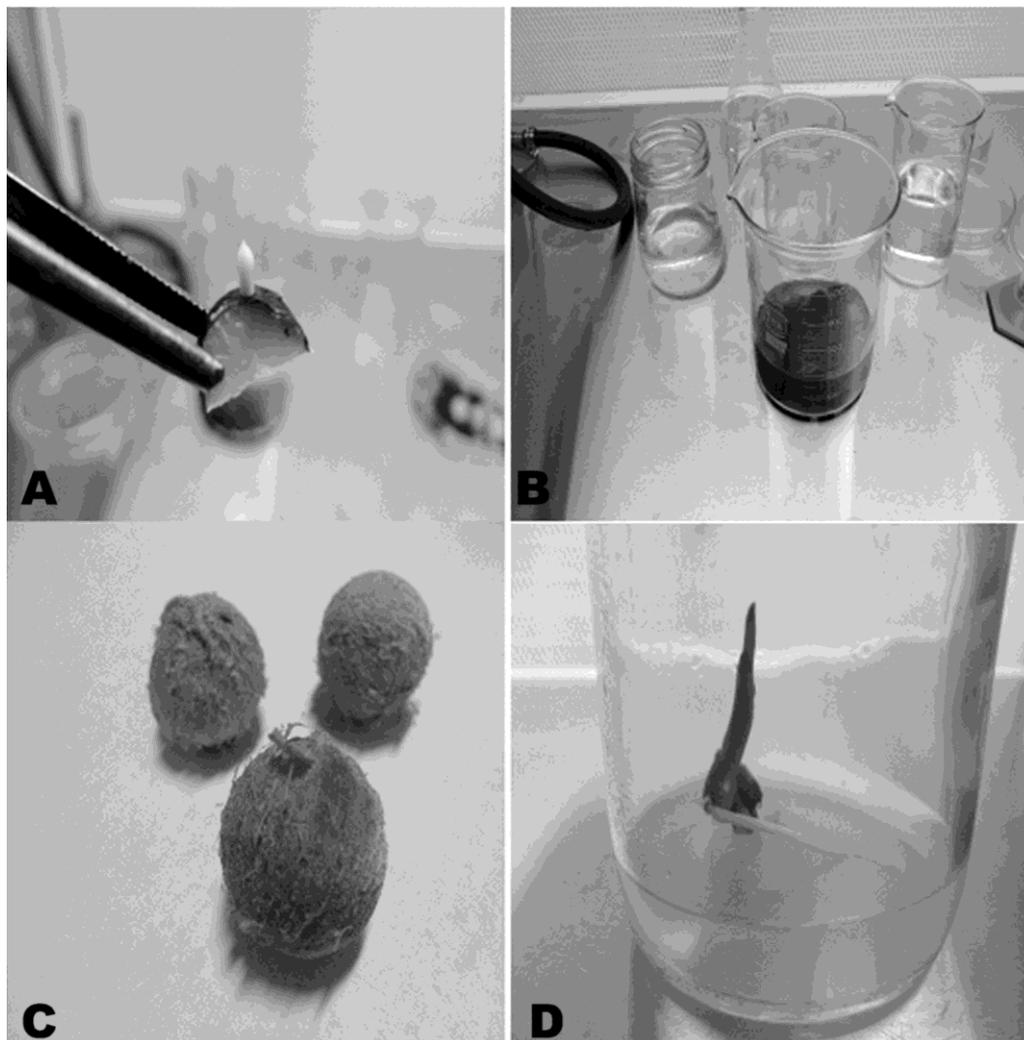


Fig. 1: Proceso experimental del cultivo de embriones cigóticos de *A. aculeata*, **A.** Frutos maduros de *A. aculeata* sin pericarpio, **B.** Desinfestación de almendras en la cámara de flujo laminar, **C.** Embrión cigótico extraído del endocarpio, **D.** Plántula obtenida en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) enriquecido con BAP luego de 40 días del aislamiento y cultivo *in vitro* del embrión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Longitud de partes aéreas generadas

Las medias de longitud de partes aéreas medidas en centímetros se realizaron 20 y 40 días después del subcultivo, los mismos fueron sometidos a la prueba de normalidad mediante Shapiro – Wilk

verificándose que no seguían una distribución normal. Seguidamente se aplicó el test no paramétrico Kruskal – Wallis ($p < 0,05$) donde no se observó diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0,14$) luego de 20 días del subcultivo ni luego de 40 días ($p = 0,08$). En la Tabla 1 se muestran las comparaciones

pareadas entre los diferentes tratamientos siendo éstas no significativas. mediante prueba de Mann - Whitney

Tabla 1. Comparaciones pareadas mediante de Mann – Whitney 20 días después del subcultivo de embriones cigóticos de *A. aculeata*.

	T ₁ Control	T ₂ MS+2g.L ⁻¹ CA	T ₃ 1 ppm BAP	T ₄ 2 ppm BAP	T ₅ 4 ppm BAP
T ₁ Control		0,2683 ^a	0,5066 ^a	0,8137 ^a	0,5066 ^a
T ₂ MS+2g.L ⁻¹ CA	0,2683 ^a		0,08086 ^a	0,184 ^a	0,5066 ^a
T ₃ 1 ppm BAP	0,5066 ^a	0,08086 ^a		1 ^a	0,08086 ^a
T ₄ 2 ppm BAP	0,8137 ^a	0,184 ^a	1 ^a		0,2612 ^a
T ₅ 4 ppm BAP	0,5066 ^a	0,5066 ^a	0,08086 ^a	0,2612 ^a	

Medias con letras comunes no son significativamente diferentes (p<0,05)

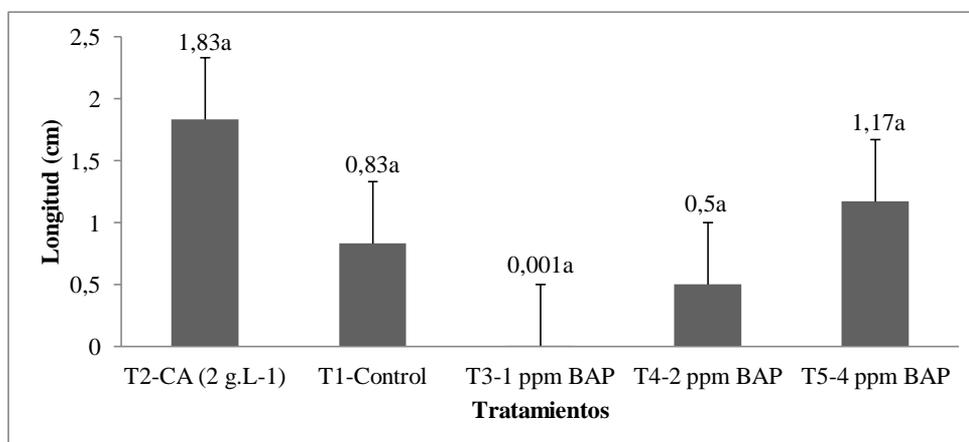


Fig. 2: Comparación de medias de longitud de partes aéreas de la primera medición, luego de 20 días del subcultivo de embriones cigóticos de *A. aculeata*.

En la Fig. 1 se observan las longitudes de hojas desarrolladas en los diferentes tratamientos luego de 20 días de incubación a fotoperiodo constante de 16 horas luz a 24 °C ± 1°. El mayor valor de longitud de hojas se observa en el T₂ consistente en un medio MS más 2 g.L⁻¹ de CA, la misma desarrolló una media de 1,83 cm seguida del T₅, MS más 4 ppm de BAP, expresando una media de 1,17 cm de longitud. El Control, conformado por medios MS sin ningún tipo de suplementación antioxidante ni BAP

presentó una media de 0,83 cm. El T₃, MS más 1 ppm de BAP no generó partes aéreas durante el desarrollo del experimento.

Ningún tratamiento arrojó diferencias significativas (p>0,05) respecto al T₁ (Control). La mayor longitud de partes aéreas en medios con BAP se observó en el T₂, MS+2 g.L⁻¹ de CA mientras que el resultado con menor expresión fue el T₃ consistente en la suplementación con BAP a razón de 1 ppm. La adición de CA a razón de 2 g.L⁻¹ en medios MS aparentemente resulta suficiente para la

generación de hojas en embriones cigóticos cultivados *in vitro* puesto que ningún tratamiento con BAP fue superior al mismo ni presentó significancia estadística.

Luego de 40 días se observaron leves cambios en cuanto a la longitud, aunque de igual forma no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) como se observa en la Tabla 2. El T₂ conformado por medios MS más 2 g.L⁻¹ de CA experimentó un leve crecimiento de 0,1 cm totalizando de

esa manera 1,93 cm, mientras que el T₅, medios con 4 ppm de BAP, alcanzó una longitud de 1,63 cm verificándose un crecimiento de 0,46 cm. El Control presentó una media de 1,07 cm siendo 0,24 cm mayor que 20 días antes, el T₄ consistente en medios con 2 ppm de BAP obtuvo una longitud de 0,83 cm, siendo 0,33 cm más que la medición anterior mientras que en el T₃ se experimentó una pequeña reacción de 0,3 cm. (Fig. 3).

Tabla 2. Comparaciones pareadas mediante de Mann – Whitney 40 días después del subcultivo de embriones cigóticos de *A. aculeata*

	T ₁ Control	T ₂ MS+2g.L ⁻¹ CA	T ₃ 1 ppm BAP	T ₄ 2 ppm BAP	T ₅ 4 ppm BAP
T ₁ Control		0,5497 ^a	0,6844 ^a	0,9924 ^a	0,8401 ^a
T ₂ MS+2g.L ⁻¹ CA	2,21 ^a		0,09352 ^a	0,3386 ^a	0,9807 ^a
T ₃ 1 ppm BAP	1,871 ^a	4,081 ^a		0,8899 ^a	0,2082 ^a
T ₄ 2 ppm BAP	0,5959 ^a	2,806 ^a	1,275 ^a		0,6169 ^a
T ₅ 4 ppm BAP	1,445 ^a	0,7652 ^a	3,316 ^a	2,041 ^a	

Medias con letras comunes no son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

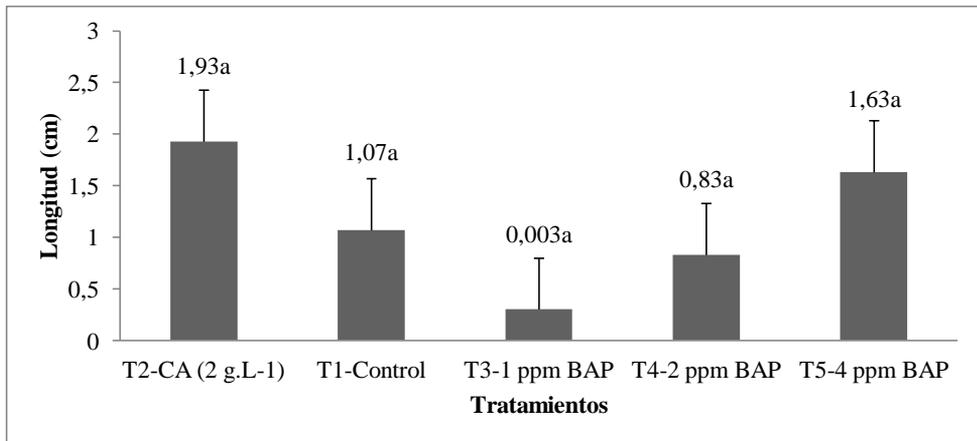


Fig. 3: Comparación de medias de longitud de partes aéreas correspondientes a la segunda medición, luego de 40 días del subcultivo de embriones cigóticos de *A. aculeata*.

El éxito de la germinación *in vitro* de embriones cigóticos es directamente proporcional al tamaño del mismo, cuanto menor es el tamaño del embrión mayor es su dependencia al medio de cultivo y sus componentes según exponen en sus resultados en cultivos de embriones de albaricoque Burgos y Ledbetter (1993) y Daorden *et al.* (2002).

En el momento de la extracción de los embriones, los mismos fueron de diferentes tamaños, llegando a contar con 3 y 4 mm de longitud aproximadamente (Fig. 1C) por lo que una buena suplementación en la preparación de los medios fue fundamental para lograr la germinación.

El tamaño del explante es un factor que puede afectar la respuesta embriogénica en palmas, en general los tamaños más pequeños responden mejor ante los diferentes tratamientos, probablemente porque existe una mayor cantidad de células expuestas al medio de cultivo, lo cual provoca un mayor estrés que fomenta el metabolismo celular (Fehér *et al.*, 2003).

De acuerdo a los resultados obtenidos por Quintero-García y Jaramillo-Villegas (2012) el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) ofrece un mejor soporte para el crecimiento y desarrollo de embriones cultivados *in vitro*.

Michelangeli de Clavijo *et al.* (2002) reportan que la germinación *in vitro* de embriones de *Bixa orellana* L. hasta su desarrollo en plántulas se logró en el medio MS con sacarosa (20 g.L⁻¹), sin regulador de crecimiento.

Los factores inmediatos relacionados al crecimiento de los explantes también lo son la temperatura, medio de cultivo y suplementaciones de sacarosa como fuente

de energía que genera efectos en la división celular (Arzate *et al.*, 2008).

Así mismo, la adición de carbón activado en los medios de cultivo además de prevenir la oxidación de los explantes favorece su desarrollo permitiendo un exitoso proceso de germinación como lo demuestran los resultados de Rodríguez *et al.* (1997) en sus trabajos de cultivo de embriones maduros e inmaduros de aguacatero.

Es posible que el carbón activado absorba compuestos fenólicos e inactive la polifenol oxidasa y peroxidasa ayudando a disminuir la oxidación y pardeamiento de los embriones cigóticos de *A. aculeata*, resultados similares fueron reportados por Moura *et al.* (2009).

Respecto a los reguladores de crecimiento, los explantes se encuentran bajo el control endógenos como exógenos y el balance de éstos es el que determinaría el resultado final en el desarrollo de explantes (Viñas y Jiménez, 2011).

Sin embargo, Soares *et al.*, (2014) también evidenciaron la ineficacia de la utilización de BAP tanto para la germinación de embriones de *A. aculeata* como para su posterior desarrollo.

Por otra parte, Martínez *et al.* (2012) demuestran que con la utilización de BAP fue posible incrementar el número de brotes *in vitro* por explante de *Sorghum bicolor* con el empleo de 0,22 mg.L⁻¹ del mismo en el medio de cultivo.

Delfrate *et al.* (2015) obtuvieron resultados exitosos en la diferenciación de callos embriogénicos de *A. aculeata*, estimulando el crecimiento y desarrollo mediante la implementación de BAP en los medios de cultivo.

Se demostró que el suministro de BAP en concentraciones de 0,05 mg.L⁻¹ podría

resultar efectivo en la germinación y desarrollo de hojas de la palma datilera (*Phoenix dactylifera* L.), especie monocotiledónea dioica ampliamente cultivada en regiones áridas, según los trabajos de Zouine & El Hadrami (2006).

Otros antecedentes de la efectividad del BAP en el desarrollo de hojas fueron las registradas por Sena *et al.*, (2007), los mismos exponen un buen desenvolvimiento y desarrollo de hojas de plántulas obtenidas por cultivo de embriones cigótico de la palma datilera *Phoenix dactylifera* L.

De acuerdo con Krikorian (1991), BAP es la citoquinina sintética que más se utiliza en el cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, y según Pedroza (2009), si es adicionada al medio de cultivo en concentraciones de 0,03 a 3,0 mg.L⁻¹, estimula excelentes procesos de multiplicación celular posibilitando un buen desarrollo de hojas.

CONCLUSIONES

El medio de cultivo Murashigue y Skoog (1962) suplementado con carbón activado en dosis de 2 g.L⁻¹ permitió la germinación de la totalidad de los embriones cigóticos de *A. aculeata* cultivados *in vitro* durante un período de 20 días.

No se observaron diferencias significativas en cuanto a la longitud de hojas de las plántulas desarrolladas en los distintos tratamientos a partir de embriones cigóticos de *A. aculeata* cultivados *in vitro* durante 40 días en el medio MS suplementado o no con 1, 2 y 4 mg.L⁻¹ de BAP, en contrapartida el protocolo permitió obtener plantas enteras en un total de 40 días después del subcultivo

permitiendo el desarrollo efectivo de los mismos.

REFERENCIAS

- Krikorian, A. 1991. Medios de cultivo: Generalidades, composición y preparación. In: Roca, William M.; Mroginski, Luis A. (eds.). Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO. p. 41-77. (Publicación CIAT no. 151).
- Gonçalves, A.; Soares, T.; Pereira, P.; Monteiro, L. 2013. Water uptake and pre-germination treatments in macaw palm (*Acrocomia aculeata* - Arecaceae) seeds. *Journal of Seed Science* 35(1): 99-105
- Alang, Z.; Moir, G.; Jones, L. 1988. Composition, degradation and utilization of endosperm during germination in the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Ann Bot* 61:261-268.
- Arzate, A.; Piña, J.; Zavaleta, M.; Hilda, A. 2008. Inducción de proembriones somáticos en ave del paraíso (*Strelitzia reginae* Banks). *Revista Fitotecnia Mexicana* 31(2): 183 - 186.
- González, A. 2010. Efectos del carbón activado (CA) y el ácido ascórbico en condiciones de luz y oscuridad sobre la oxidación de embriones zigóticos del mbokaja (*Acrocomia aculeata*) (Jacq.) en la germinación *in vitro*. Tesis de grado. San Lorenzo. Universidad Nacional de Asunción.
- Fehér, A.; Pasternak, T.; Dudits, D. 2003. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 74: 201-228. doi: 10.1023/A:1024033216561.

- Neto, A.; Guimarães, F.; Sales, J.; Fialho, E.; Silva, L.; Cândido, R. 2014. Dormancy breaking in macaw palm [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loddiges ex Mart.] seeds. *Acta Scientiarum. Agronomy* 36(1): 43-50. doi:10.4025/actasciagron.v36i1.13220
- Fiori, C.; Díaz, M.; González, L. 2016. Enraizamiento *in vitro* de embriones cigóticos de *Acrocomia aculeata* (JACQ.) Lodd ex Mart. *Colombia Forestal*, 19(1), 67-78. doi <http://dx.doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2016.1.a05>
- Michelangeli, C.; Artioli, P.; Medina, M. 2002. Embriogénesis somática en onoto. *Agronomía Tropical* 52(4): 523-541.
- Sorol, C.; Haupenthal, D.; Reckziegel, M. 2012. Caracterización de la germinación, la plántula y el crecimiento de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd ex Mart. *Rojasiana* 11(1 – 2): 21 – 30.
- DeMason, D. 1988. Embryo structure and storage reserve histochemistry in the palm *Washingtonia filifera*. *American Journal of Botany* 75(3): 330 - 337.
- Bewley, D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055-1066. doi: 10.1105/tpc.9.7.1055.
- Moura, E.; Yoshimitsu, S.; Contin, M.; de Sá Júnior, A.; Carvalho, M. 2009. Somatic embryogenesis in macaw palm (*Acrocomia aculeata*) from zygotic embryos. *Scientia Horticulturae* 119(2009): 447–454. doi: 10.1016/j.scienta.2008.08.033
- Benson, E. 2000. Special symposium; *in vitro* plant recalcitrance, an introduction. *In vitro Cell Dev. Biol. Plan.* 36: 141 – 148. doi 10.1007/s11627-000-0029-z
- Schmidt, F. 2008. Cultivo *in vitro* e embriogénesis somática de embriões zigóticos de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loddiges). Tesis doctoral. Minas Gerais. Universidades Federal de Vicosa.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2002. Estado de la información forestal del Paraguay. Proyecto GCP/RLA/133/EC. Información y análisis para el manejo forestal sostenible: integrando esfuerzos nacionales e internacionales en 13 países tropicales en América Latina. Santiago. Monografía de países Volumen 14. 195p
- Traesel, G.; Castro, L.; P. V. B. Silva, R. M. Muzzi, Kassuya, C. A. L. Kassuya, A. C. Arena y S. A. Oesterreich. 2015. Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and mutagenic potential of *Acrocomia aculeata* in rats. *Genetics and Molecular Research* 14(1): 585-596. doi:org/10.4238/2015.January.26.13.
- Caldas, G. 2006. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. - Areaceae: bases para o extrativismo sustentável. Tesis doctoral. Curitiba. Universidade Federal do Paraná.
- Pereira, G.; Alves, A.; Galveas, B.; Leo Carson, L. 2015. Parâmetros genéticos e diversidade em progênes de Macaúba com base em características morfológicas e fisiológicas. *Ciência Rura* 45(9): 1599-1605. doi:10.1590/0103-8478cr20140909.
- Souto, G. 2008. Agricultural insurance. Paraguay taps its potential for biofuel production. Fourth year/Second phase. Asunción. *Information and Communication*, IICA.50 p.

- Pedroza, J. 2009. Efecto del carbón activado, ácido indolacético (AIA) y bencilaminopurina (BAP) en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* Jacq. Bajo condiciones *in vitro*. *Revista Colombiana de Biotecnología* 10(1): 17 – 32.
- Zouine, J.; El Hadrami, I. 2007. Effect of 2, 4-D, glutamine and BAP on embryogenic suspension culture of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Scientia Horticulturae* 112(2007): 221–226. doi:10.1016/j.scienta.2006.12.041.
- Doria, J. 2010. Revisión Bibliográfica. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales* 31(1):74-85
- Martínez, J.; Villegas, Y.; Enríquez, J.; Carrillo, J.; Vásquez, M. 2013. Estrategias de escarificación para eliminar la latencia en semillas de *Cenchrus ciliaris* L. y *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* (6): 1263-1272.
- Delfrate, J.; Lopes, L.; Amano, É.; Quoirin, M. 2015. Somatic embryogenesis in *Acrocomia aculeata* Jacq. (Lodd.) ex Mart using the thin cell layer technique. *Acta Botanica Brasilica* 29(4): 516-523. doi: 10.1590/0102-33062015abb0109.
- Shibu, J.; Gillespie, A. 1998. Allelopathy in black walnut (*Junglas nigra* L.) alley cropping spatio-temporal variation in soil juglone in a black walnut-corn (*Zea mays* L.) alley cropping system in the Midwestern USA. *Plan Soil*. 203: 191 - 197
- Monteiro, L.; Trombert, D.; Souza, Q. 2011. Structural evaluations of zygotic embryos and seedlings of the macaw palm (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae) during *in vitro* germination. *Trees*. (2012) 26: 851-863. doi: 10.1007/s00468-011-0659-2
- Burgos, L.; Ledbetter, C. 1993. Improved efficiency in apricot breeding. Effects of embryo development and nutrient media on *in vitro* germination and seedling establishment. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 35: 217-222. doi: 0.1007/BF00037273
- Daorden, M.; Marín, J.; Arbeloa, A. 2002. Germinación *in vitro* de embriones inmaduros a distintas temperaturas de estratificación. *ITEA* 98(1): 71-80.
- Aguiar, M.; Mendonça, M. 2003. Morphoanatomy of the Euterpe precatória Mart. (Palmae) seed. *Revista Brasileira de Sementes* 25:(1) 37-42. doi: 10.1590/S0101-31222003000100007.
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería. 2008. Informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación. Dirección de Investigación Agrícola. Asunción. 102p.
- Lima, M.; Ramos, M.; Aiko, P.; Braga, J.; Siqueira, E. 2008. Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28(Supl.): 90-94. doi.org/10.1590/S0101-20612008000500015
- Viñas, M.; Jiménez, V. 2011. Factores que influyen en la embriogénesis somática *in vitro* de palmas (Arecaceae). *Revista Colombiana de Biotecnología* 13(2): 229 – 24.
- McDonald, M. 2007. Revisión de la Situación Actual de Mbokaja

- (*Acrocomia totai*) en Paraguay. Informe final. 78p
- Monteiro, L.; Trombert, D.; se Souza, Q. 2012. Structural evaluations of zygotic embryos and seedlings of the macaw palm (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae). *Trees* 26: 851- 863. doi: 10.1007/s00468-011-0659-2.
- Sena, N.; Ibrahim, A.; Ahmed, M. 2007. Desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de tamareira. *Revista Ciência Agronômica*. 38(3): 276-279.
- Rodríguez, N.; Fuentes, V.; Rodríguez, O.; Álvarez, M. 1997. Cultivo *in vitro* de embriones maduros e inmaduros de aguacatero (*Persea americana* Mill.). *Agricultura Técnica*, 57(2): 154–158.
- Crocomo, O.; Melo, M. 1996. *Acrocomia* Species (Macauba Palm). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. 35: 3-17.
- Quintero, O.; Jaramillo, S. 2012. Rescate y germinación *in vitro* de embriones inmaduros de cedro negro (*Juglans neotropica* Diels). *Acta Agronómica* 61(1): 52-60.
- Hammer, Ø.; Harper, D.; Ryan, P. (2001). PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontología Electrónica* 4 (1): 9
- Da Silva, P; Cardoso, L.; Lopes, R.; Reis, N, Raimundo N. Vieira da C y Regina Caetano Q. 2011. *In vitro* rescue of interspecific embryos from *Elaeis guineensis* x *E. oleifera* (Arecaceae). *Rev. Biol. Trop.* 59 (3): 1081-1088.
- Martínez, S.; Gómez, R.; Posada, L.; Barbón, R.; Suárez, M.; Reyes, M Pérez, M.; Torres, D.; Pons, M.; Cárdenas, M.; Aguilera, A.; Tejeda, M. 2012. Efecto de dos citoquininas, ácido ascórbico y sacarosa en la obtención de plantas *in vitro* de *Sorghum bicolor* para la formación de callos. *Revista Colombiana de Biotecnología* 14(2): 101-110.
- Rocha, S. 1998. Princípios da Cultura de Tecidos Vegetais 1ra Edição. Plantina. *Embrapa Cerrados*.16 p.
- Cardone, S.; Pérez, G.; Picca, A. 2010. Polinización y fertilización *in vitro*. En: Biotecnología y mejoramiento vegetal II, ed Gabriela Levitus, Viviana Echenique, Clara Rubinstein, Esteban Hopp y Luis Mroginski, 185-196. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*. INTA, ARG, 648 p.
- Teixeira, L. 2005. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. *Informe Agropecuário*. 26(229): 18-27. doi: 17.138.140/0001-23.
- Soares, T.; Gonçalves, J.; Pereira, P.; Monteiro, L. 2013. Use of phytohormones in overcoming macaw palm seed dormancy. *Acta Scientiarum. Agronomy* 35(4): 505-511.
- Panza, V.; Láinez, V.; Maldonado, M. 2004. Seed structure and histochemistry in the palm *Euterpe edulis*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 145: 445-453. doi: 10.1111/j.1095-8339.2004.00293.x
- Castilla, Y. 2012. Revisión bibliográfica. Conservación de recursos fitogenéticos de cafeto (*Coffea* spp.) por métodos biotecnológicos: una alternativa para su preservación. *Cultivo Tropicales* 33(4): 29 – 39.

Nuevos registros de *Calvatia rugosa* (Berk. & M.A. Curtis) D.A. Reid y *Vascellum pampeanum* (Speg.) Homrich (Agaricaceae-Basidiomycota) en Paraguay

Campi, M.¹; Maubet, Y.¹

¹ Área Micología, Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción
E mail del autor: geraldinecampi@gmail.com

Nuevos registros de *Calvatia rugosa* (Berk. & M.A. Curtis) D.A. Reid y *Vascellum pampeanum* (Speg.) Homrich (Agaricaceae-Basidiomycota) en Paraguay. Se registran por primera vez para el Paraguay las especies *Calvatia rugosa* y *Vascellum pampeanum*. Se proporciona una descripción macro y microscópica, se ilustran los caracteres morfológicos distintivos de la especie y una discusión en torno a su taxonomía.

Palabras clave: Gasteromicetos, diversidad de hongos, micobiota neotropical, puff-balls, taxonomía

New records of *Calvatia rugosa* (Berk. & M.A. Curtis) D.A. Reid and *Vascellum pampeanum* (Speg.) Homrich (Agaricaceae-Basidiomycota) in Paraguay Two new species are recorded for the first time for Paraguay: *Calvatia rugosa* and *Vascellum pampeanum*. A description of the macroscopic and microscopic characteristics is provided along with illustrations of the distinctive morphological characters of the species and a discussion about its taxonomy.

Keywords: Gasteromycetes, fungal diversity, neotropical micobiota, puff-balls, taxonomy

INTRODUCCIÓN

Los hongos gasteromicetos son un grupo de hongos macroscópicos silvestres distinguidos porque sus basidiosporas están contenidas en el interior del cuerpo fructífero, el cual se desarrolla angiocárpicamente. Son indehiscentes y durante la mayor parte de su desarrollo están cerrados, de manera que la dispersión esporal es por medio de la acción del viento, lluvia, insectos o mamíferos (Pegler *et al.*, 1995; Miller y Miller, 1988; Ulloa y Hanlin, 2000). Taxonómicamente es un grupo no natural donde se ubicaron especies como los popularmente denominados “pedos de lobo”, “estrellas terrestres”, “cuernos hediondos” y “nidos

de pájaros” (Guzmán, 1997) o “puffballs”, “earthstars” y “stinkhorns” por su denominación en inglés (Miller y Miller, 1988; Pegler *et al.*, 1995). La familia Lycoperdaceae Chevall. donde se ubican los llamados “pedos de lobo” o puff-balls está relacionada filogenéticamente con miembros del orden Agaricales (Hibbett *et al.*, 1997). Aunque se podría tratar de un grupo monofilético (Vellinga, 2004), los límites entre géneros y especies aún quedan ambiguos (Krüger *et al.*, 2001; Bates, 2004; Larsson y Jeppson, 2008).

La familia Lycoperdaceae incluye a hongos gasteroides caracterizados por ser epigeos, con gleba y paracapilicio o capilicio donde se desarrollan las esporas rodeadas por el peridio, pudiendo abrirse

Steviana, Vol. 8(1), 2016 pp. 43–50.

Original recibido el 05 de mayo de 2016.

Aceptado el 13 de julio de 2016.

este último por un poro o por desgarre del mismo (Coker y Couch, 1928; Miller y Miller, 1998). En las primeras clasificaciones de distintos géneros se tomó en cuenta la forma de apertura del peridio (Smith, 1974).

Calvatia Fr. fue definido por un peridio fino el cual se abre en fragmentos irregulares dejando a la vista la masa esporal pulverulenta (Coker y Couch, 1928; Calonge y Martin, 1990; Baseia, 2003). *Vascellum* F. Smarda, fue separado de *Lycoperdon* Pers. por la presencia de un diafragma que separaba la gleba de la subgleba (Ponce de Leon, 1970; Kreisel, 1993). Kreisel adhirió a las características del género el predominio de paracapilicio en la gleba y el tipo de dehiscencia intermedia entre *Calvatia* y *Lycoperdon* (Smith, 1974). Algunas especies pueden tener ambos, paracapilicio y eucapilicio, además presentar solo un pseudodiafragma (Cortez *et al.*, 2008).

Teniendo en cuenta la escasa información sobre la micobiota del Paraguay, se aportan en el siguiente trabajo, las primeras citas de *Calvatia rugosa* y *Vascellum pampeanum*, se incluyen las descripciones y fotografías de las estructuras macroscópicas y microscópicas que caracterizan a las especies estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron muestras colectadas en el Campus Universitario, Ciudad San Lorenzo, Departamento Central (26°20'08''S - 57°31'14''O) y en la Reserva Natural Laguna Blanca, Departamento de San Pedro (23°49'17,1''S - 56°17'52,6''O).

Las descripciones macroscópicas se basaron en material fresco, siguiendo los

lineamientos propuestos por Wright y Albertó (2002) y Lodge *et al.* (2004). Las características microscópicas se describieron a partir del material montado en KOH al 5%, teñidas con floxina al 1% , rojo Congo Amoniaco y reactivo de Melzer y analizados en microscopio óptico binocular Carl Zeiss, con objetivos de 40X y 100X con aceite de inmersión (Wright y Albertó, 2002).

Los ejemplares estudiados fueron depositados en el herbario FACEN de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calvatia rugosa (Berk. & M.A. Curtis) D.A. Reid, Kew Bulletin 31 (3): 671 (1977)
≡ *Lycoperdon rugosum* Berk. & M.A. Curtis, in Berkeley 1868

Basidioma maduro epigeo de 2-7 cm de diámetro y 2-6,6 cm de alto, globoso-subgloboso a piriforme, en la porción central de la zona basal del exoperidio, se forma una protuberancia rugosa fruncida, de donde nace un pseudoestípite estéril, delgado (2-4 mm de diám.), a modo de rizomorfo de color castaño oscuro y una pseudorriza central de 4-6,5 cm de longitud con parte del sustrato adherido fuertemente. **Exoperidio** granuloso, frágil, delgado de color mostaza opaco con pequeñas manchas color naranja en la superficie, con hifas globosas a subglobosas, irregulares, de paredes gruesas de 10-30 x 8-12 µm, amarillentas en KOH. **Endoperidio** liso, suave, muy fino de color verde olivo a ocre cuando maduro. **Gleba** homogénea, lanuda, espesa, persistente en muestras jóvenes

blanquecinas, cuando maduras de color ocre a verde olivo. **Subgleba** compacta, fruncida, ocupa gran parte del basidioma. **Basidiosporas** de 3-6 μm de diám. globosas, espinosas a equinuladas con doble pared, con un pequeño pedicelo o cola $<1 \mu\text{m}$ de longitud, de color castaño en KOH, con gútula central, esporas inmaduras hialinas con forma ovoide-globosa, inamiloides. **Eucapilicio** con hifas septadas de pared delgada, ensanchada en los septos, con numerosos poros circulares en su interior, amarillentos en KOH, presentan forma de Y.

En los ejemplares se observaron manchas de color naranja intenso sobre la superficie del exoperidio húmedo, consistente en esporas liberadas al exterior. *Calvatia rugosa* es una especie caracterizada por su polimorfismo, por el cual le valió varios nombres a la especie, entre ellos el más conocido es el de *Calvatia rubrofaba* (Wright y Albertó, 2002).

Cortez *et al.* (2008), comentan que posiblemente la *C. rugosa* sea la especie más común del género *Calvatia* Fr. y que su principal característica es la presencia

del pigmento naranja que mancha al basidioma cuando este es cortado. Otra característica distintiva es su larga prolongación rizomórfica de 20-200 mm de diámetro y 10-100 mm de alto, que se pliega en la base y se encuentra adherido por uno o más rizomorfos delgados a gruesos (Wright y Albertó, 2006). Existe cierta similitud morfológica entre la *C. rugosa* y *C. candida*, Calonge *et al.* (2005), comentan que *C. rugosa* tiene peridio de color pardo rojizo mientras que la *C. candida* presenta peridio amarillento pálido.

Hábitat: Gregarios, se encontró en sustrato arenoso, sin asociaciones vegetales en suelo rico en material orgánico.

Material estudiado: PARAGUAY; Departamento San Pedro; Ciudad Santa Rosa de Aguaray Guazú; Reserva Natural Laguna Blanca; Sendero Kurupay'ty; 23°49'17,1''S - 56°17'52,6''O; 4-IV-2012; Campi, M.; FACEN 003345.

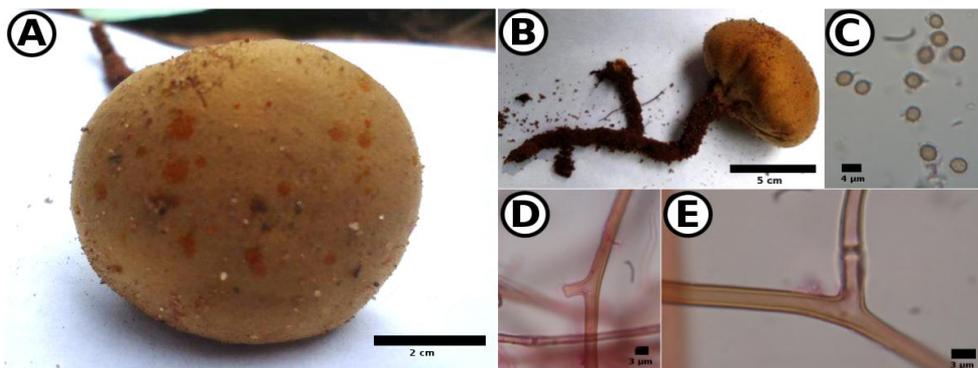


Fig. 1: *Calvatia rugosa*, **A.** Basidioma con exoperidio con manchas color naranja en la superficie, **B.** Basidioma, globoso-subgloboso a piriforme in situ, con rizomorfo basal, **C.** Basidiosporas globosas, espinosas, pequeño pedicelo, **D - E.** Eucapilicio con hifas septadas de pared delgada, ensanchada en los septos.

Distribución: Cunningham, (1944) cita la distribución de esta especie para Australia y América, para Brasil se cita para los Estados de: Rio de Janeiro (Silveira 1943), São Paulo (Bononi *et al.* 1981), Paraná (Meijer 2006), Santa Catarina y Rio Grande do Sul (Rick 1961; Guerrero y Homrich 1999; Cortez *et al.* 2008); para Argentina se cita para la Provincia de Buenos Aires (Wright y Albertó, 2002) y La Rioja (Kuhar *et al.* 2012), para Bolivia, Rocabado *et al.* (2007), citan para la Provincia de Gran Chaco. Éste representa el primer registro para el Paraguay.

Vascellum pampeanum (Speg.) Homrich, in Homrich & Wright, *Can. J. Bot.* 66(7): 1286 (1988)

=*Lycoperdon pampeanum* Speg., *Contribución al Estudio de la Flora de la Sierra de la Ventana* (Buenos Aires): 80 (1896)

Basidioma globoso a ligeramente piriforme de 2,4-3 cm de alto x 2,4-3,5 cm de diámetro; pseudoestípite 1,5-3 cm de altura, sin espinas. **Exoperidio** cubierto por espinas blancas a beige, puntiagudas, erectas; en ejemplares maduros caen dejando ver una superficie lisa de color verde olivo. **Gleba** blanca, maciza proporcional a la subgleba en los primeros estadios; de color verde olivo en la madurez, polvorienta, de 0,7-1 cm de altura ocupando 1/4 del tamaño del basidioma; separada de la subgleba por un **diafragma** color verde grisáceo en la madurez, muy evidente, <1mm de grosor, compuesta por hifas muy entrelazadas de 2,5-3(-4) μm , de paredes gruesas y de color verde a marrón oscuro, forma ondulada. **Exoperidio** compuesto por hifas

esqueléticas de color verde olivo en KOH, de 4-7 μm de diámetro, de paredes gruesas, ramificadas, con contenido citoplasmático, mycoscleidas de 12-39,5 μm de longitud, de paredes gruesas, hialinas, numerosas hacia las capas internas; púas compuestas por células fusiformes de 8,7-17,5 μm de diámetro, formando cadenas, de paredes delgadas, hialinas. **Gleba** compuesta por eucapilicio abundante 4-6(-7) μm , con hifas de pared gruesa, ramificadas, verde olivo en KOH y paracapilicio menos abundante, con hifas septadas de 2-3 (-3,2) μm de diámetro, hialinas, de pared delgada. **Subgleba** celular de color verde grisáceo compuesta por hifas de color verde olivo, de 4-9 (-10) μm , ramificadas, de paredes gruesas. **Basidiosporas** de (3,5) 4-4,5(-5) μm de diám., globosas, ligeramente verdes, con ornamentación verrugosa y contenido citoplasmático.

Vascellum se caracteriza por tener un diafragma que separa la gleba de la subgleba y por la ausencia o presencia en escasa cantidad de eucapilicio (Smith, 1974; Homrich y Wright, 1987; Kreisel, 1993). Según Homrich y Wright (1987), lo que caracteriza a *V. pampeanum* es la presencia de micosclereidas en la superficie del exoperidio y la presencia de eucapilicio. Wright y Albertó (2002) mencionan que *V. pampeanum* se distingue bien en el campo por sus basidiomas relativamente grandes, con forma de trompo achatado y espinas blancas muy notorias.

Hábitat: Gregarios, sobre césped.

Material examinado: PARAGUAY; Departamento Central; Ciudad de San Lorenzo; Campus Universitario;

26°20'8,16''S - 57°31'13,8''W; 26-IX-2014; Maubet, Y.M.; FACEN 003357.

Distribución: Para Bolivia se cita en las provincias de: Campero y Manuel María Caballero (Rocabado *et al.*, 2007). Para Argentina se cita en las provincias de:

Buenos Aires, San Juan, Córdoba, Chaco, Entre Ríos, Salta, Santa Cruz, Santa Fe y Santiago del Estero (Homrich y Wright, 1987). Para Uruguay se cita en el Departamento de Soriano (Homrich y Wright, 1987). Éste representa el primer registro para el Paraguay.

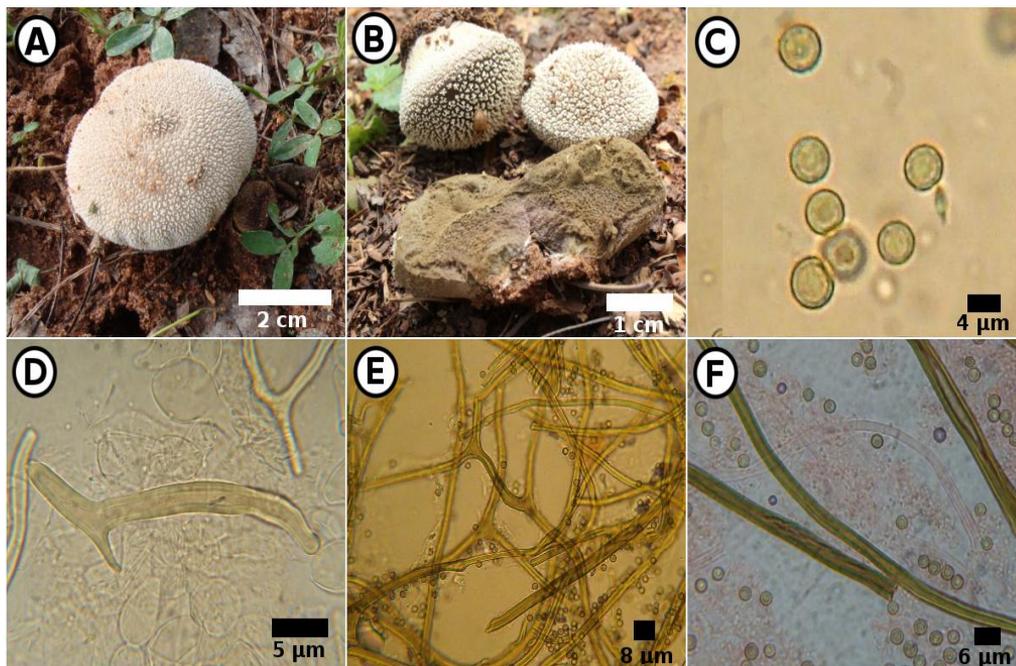


Fig. 2: *Vascellum pampeanum*, **A.** Basidioma, globoso a piriforme in situ, **B.** Detalle del exoperidio cubierto por espinas puntiagudas, **C.** Basidiosporas globosas, **D.** Mycoscleidas de paredes gruesas, **E.** Eucapilicio con hifas de pared gruesa, ramificadas, **F.** Paracapilicio con hifas septadas, hialinas, de pared delgada.

CONCLUSIONES

Comparando las características macroscópicas y microscópicas descritas por los autores consultados y en base a las descripciones de las especies citadas; tales como la pigmentación naranja y el largo rizomorfo en la *C. rugosa* y la presencia de diafragma y escasa cantidad de eucapilicio en el *V. pampeanum*, concluimos que los materiales estudiados corresponden a *Calvatia rugosa* y *Vascellum pampeanum*.

Ambos son citados por primera vez para el Paraguay, contribuyendo así con el registro de la micobiota gasteroide del país.

REFERENCIAS

- Baseia, I.G. 2003. Contribution to the study of the genus *Calvatia* (Lycoperdaceae) in Brazil. *Mycotaxon* 88: 107-112.
- Bates, S.T. 2004. Arizona members of the Geastraceae and Lycoperdaceae

- (Basidiomycota, Fungi). PhD thesis, Arizona State University, 50-58.
- Bononi, V., Trufem, S.; Grandi, R. 1981. Fungos macroc6picos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, S6o Paulo, Brasil, depositados no Herb6rio do Instituto de Bot6nica. *Rickia* 9: 37-53.
- Calonge, F. D.; Martin, P.M. 1990. Notas sobre la delimitaci6n taxon6mica en los g6neros *Calvatia*, *Gastropila* y *Langermannia* (Gasteromycetes). *Bolet6n de la Sociedad Micol6gica de Madrid* 14: 181-190.
- Calonge, F, Mata, M.; Carranza, J. 2005. Contribuci6n al cat6logo de los Gasteromycetes (Basidiomycotina, Fungi) de Costa Rica. *Anales del Jard6n Bot6nico de Madrid* 62(1): 23-45.
- Coker, W.C.; Couch, J.N. 1928. The Gasteromycetes of the eastern United States and Canada. Dover Publications. 201p.
- Cortez, V.G., Baseia I.G.; Suilveira, R.M. 2008. Gasteromicetos (Basidiomycota) no Parque Estadual de Itapu6, Viam6o, Rio Grande do Sul, Brasil. *Bioci6ncias* (Porto Alegre) 6(3): 291-299.
- Cortez, V.G.; Baseia, I.G.; Silveira, R.M.B. 2013. Gasteroid mycobiota of Rio Grande do Sul, Brazil: *Lycoperdon* and *Vascellum*. *Mycosphere* 4(4): 745-758.
- Cunningham, G.H. 1944. The Gasteromycetes of Australia and New Zealand. John McInhoe, Dunedin Pags. 125-175
- Guerrero, R.T.; Homrich, M.H. 1999. Fungos Macrosc6picos Comuns no Rio Grande do Sul-Guia para Identificaci6n. Ed. Universidade/UFRGS: Porto Alegre (Brasil). 124p.
- Guzm6n, G. 1997. Los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en Am6rica Latina. CONABIO/INECOL, Xalapa (M6xico). 355p.
- Hibbett, D.S.; Pine, E.M.; Langer, E.; Langer, G.; Donoghue, M.J. 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 94: 12002-12006.
- Homrich, M.H.; Wright, E.E. 1987. South American Gasteromycetes. II. The genus *Vascellum*. *Canadian Journal of Botany* 66: 1285-1307.
- Kuhar, F.; Castiglia, V.; Zamora, J.C.; Papinutti, L. 2012. New records and notes on gasteroid fungi of arid regions in Argentina. *Sydowia* 64: 233-244.
- Kreisel, H. 1993. A key to *Vascellum* (Gasteromycetidae) with some floristic notes. *Blyttia* 51: 125-129.
- Kr6ger, D.; Binder, M.; Fischer, M.; Kreisel, H. 2001. The Lycoperdales. A molecular approach to the systematics of some gasteroid mushrooms. *Mycologia* 93: 947-957.
- Larsson, E.; Jeppson, M. 2008. Phylogenetic relationships among species and genera of Lycoperdaceae based on ITS and LSU sequence data from north European taxa. *Mycological Research* 112: 4-22.
- Lodge, D.; Ammirati, J.; O'Dell, T.; Mueller, G. 2004. Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods. Londres, Reino Unido. Academic Press. 127-158p.
- Meijer, A. 2006. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian State of Paran6. *Boletim do Museu Bot6nico Municipal* 68: 1-59.
- Miller, O.K.; Miller, H.H. 1988. Gasteromycetes. Morphological and developmental features with keys to the

- orders, families, and genera. Mad River Press. 156p.
- Pegler, D.N.; Laessoe, T.; Spooner, B.M. 1995. British puffballs, earthstars and stinkhorns, an account of the British gasteroid fungi. Royal Bot. Gard., Kew, 255p.
- Ponce de Leon, P. 1970. Revision of the Genus *Vascellum* (Lycoperdaceae). *Fieldiana Botany* 32: 109-125.
- Rick, J. 1961. Basidiomycetes Eubasidii no Rio Grande do Sul – Brasília. *Iheringia, Série Botânica* 9:451-480.
- Rocabado, D.; Wright, E.; Maillard, O.; Muchenik, N. 2007. Catálogo de los Gasteromycetes (Fungi: Basidiomycotina) de Bolivia. *Kempffiana* 3(1): 3-13.
- Silveira, V.D. 1943. O gênero *Calvatia* no Brasil. *Rodriguésia* 7: 63-80.
- Smith, A. H. 1974. The genus *Vascellum* (Lycoperdaceae) in the United States. Bull. Soc. Linn. Lyon (Travaux mycol. dédiés à R. Kühner) 43: 407-419.
- Smith, A.H. 1974. The genus *Vascellum* (Lycoperdaceae) in the United States. Bulletin de la Société Linnéenne de Lyon (Numéro special) 43: 407-419.
- Ulloa, M.; Hanlin, R.T. 2000. Illustrated dictionary of mycology. *Amer. Phyto. Soc.* 448p.
- Vellinga, E.C. 2004. Genera in the family Agaricaceae – Evidence from nrITS and nrLSU sequences. *Mycological Research* 108: 354-377.
- Wright, J.E.; Albertó, E. 2002. Guía de los hongos de la Región Pampeana II. Hongos sin laminillas. Editorial L.O.L.A. Buenos Aires. 412p.

Actividad antimutagénica de *Salvia hispanica* sobre mutaciones y recombinaciones somáticas en *Drosophila melanogaster*²

Gayozo, E.¹; Rivarola, C.¹; Marín Insfrán, L.¹; Filizzola, N.¹

¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción

²Trabajo de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, financiado por el Rectorado de la Universidad Nacional de Asunción durante el año 2015

E mail del autor: elviologo@gmail.com

Actividad antimutagénica de *Salvia hispanica* sobre mutaciones y recombinaciones somáticas en *Drosophila melanogaster*. Actualmente el consumo de Chía (*Salvia hispanica*) en Paraguay ha aumentado en zonas urbanas y rurales principalmente como suplemento nutricional e importante fuente antioxidante. Investigaciones demuestran que metabolitos secundarios aislados de plantas del género *Salvia* poseen actividades antioxidantes y podrían ser antimutagénicas. Este estudio corresponde a un modelo experimental analítico puro de corte transversal con diseño completamente al azar y tiene por objetivo determinar la acción antimutagénica del mucilago de *Salvia hispanica* en *Drosophila melanogaster*. Para esto, larvas de tercer estadio se sometieron a tratamiento oral por 6 horas con Ciclofosfamida para inducir mutaciones, luego fueron expuestas por 46 horas a diferentes concentraciones del mucilago de semillas de *S. hispanica* acorde al uso popular (11,5 mg.mL⁻¹, 17,1 mg.mL⁻¹ y 22,9 mg.mL⁻¹). Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con el test de Kastenbaum-Bowman; $\alpha = \beta = 0,05$ y revelaron disminución de entre 18% a 45% en la frecuencia total de mutaciones.

Palabras claves: antigenotoxicidad, Chía, *D. melanogaster*, Mutaciones, Paraguay

Antimutagenic activity of *Salvia hispanica* on somatic mutations and recombinations in *Drosophila melanogaster*. Currently the consumption of Chia (*Salvia hispanica*) in Paraguay has increased in urban and rural areas mainly as a nutritional supplement and important antioxidant source. Research shows that secondary metabolites isolated from plants of the genus *Salvia* possess antioxidant activity and could be antimutagenic. This study corresponds to a pure analytical experimental cross-section model with a completely randomized design, and it aims to determine the antimutagenic action of the mucilage of *Salvia hispanica* in *Drosophila melanogaster*. For this purpose, third-instar larvae were treated orally with Cyclophosphamide for 6 hours to induce mutations, then exposed for 46 hours to different concentrations of *S. hispanica* mucilage according to popular usage (11.5 mg.mL⁻¹, 17.1 mg.mL⁻¹ and 22.9 mg.mL⁻¹). The results were statistically analyzed with the Kastenbaum-Bowman test $\alpha = \beta = 0.05$, and showed an 18% to 45% decrease in total frequency of mutations.

Keywords: antigenotoxicity, Chia, *D. melanogaster*, mutations, Paraguay

INTRODUCCIÓN

La Chía (*Salvia hispanica*) es una hierba anual de la familia Lamiaceae, posee semillas con altos contenidos lipídicos (65% de aceite) siendo Ω -3- α -ácido linolénico (63%) y Ω -6-ácido

linoléico (19%) los más abundantes del total de lípidos, 20% de contenido proteico y 5-10% de fibras en el mucilago, esto representa un rendimiento superior en comparación a otras fuentes naturales y hace de los mismos muy empleados en la dieta tanto con fines nutricionales como

Steviana, Vol. 8(1), 2016 pp. 50– 58.

Original recibido el 27 de junio de 2016.

Aceptado el 14 de octubre de 2016.

con fines terapéuticos (Ullah *et al.*, 2015; Ayerza *et al.*, 2002; Ayerza y Coates, 2011; Di Sapio *et al.*, 2008; Cvetkovikj *et al.*, 2013; Alfredo *et al.*, 2009).

Son ampliamente utilizadas como fuente de antioxidantes, a consecuencia de su contenido en polifenoles (8,8% del peso seco), este grupo de compuestos posee la capacidad proteger del deterioro oxidativo e inhibir la acción de los radicales libres, la presencia de estas moléculas se cree podría poseer efectos neuroprotectores, antihipertensivo, antienvjecimiento y anticarcinógenos (Tepe *et al.*, 2006; Ullah *et al.*, 2015; Craig, 2004).

El poder antioxidante de los mismos fue evaluado *in vitro* empleando ensayos como el sistema de peroxidación de liposomas, el sistema modelo del ácido linoleico β -caroteno (B-CLAMS) y sistema del radical catiónico del ácido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS+radical), evidenciando de esta manera que los mismos pueden actuar de manera similar a antioxidantes comerciales (Valdivia-López y Tecante, 2015; Reyes-Caudillo *et al.*, 2008). Es importante destacar que polifenoles también fueron encontrados asociados a fibras presentes en la goma (mucilago) secretada por las semillas, por lo que posee también ligeras actividades antioxidantes (Valdivia-López y Tecante, 2015).

Aceites extraídos de semillas fueron introducidas a la dieta diaria de ratas obesas restauraron el sistema antioxidante en ellos, otro estudio sugiere que la combinación de estas con extracto de frutos de *Punica granatum* podría utilizarse para el tratamiento de melanomas epidérmicos, ya que estos pueden interrumpir las síntesis de melanina

(da Silva *et al.*, 2015; Diwakar *et al.*, 2014).

El presente estudio tiene por objetivo determinar la acción antimutagénica del mucilago secretado por las semillas de *Salvia hispanica* sobre mutaciones y recombinaciones inducidas químicamente en *Drosophila melanogaster*, a fin de comprobar la antigenotoxicidad del mismo en sistemas *in vivo* a modo de obtener resultados consistentes para sistemas vivos (Fernandez-Panchon *et al.*, 2008).

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del extracto acuoso del mucilago de *Salvia hispanica*

Las semillas de *Salvia hispanica* fueron obtenidas de proveedores comerciales e identificados según los caracteres morfológicos descritos por Di Sapio y colaboradores (2012). Se pesaron 11,5 g, 17,1 g y 22,9 g respectivamente y fueron lavadas con agua destilada a manera de liberar la carga de contaminantes y activar uniformemente la secreción del mucilago a temperatura ambiente constante de $28 \pm 1^\circ$ C (Muñoz *et al.*, 2012). Se dejaron reposar cada uno en 1000 mL de agua destilada por 8 horas según el consumo popular paraguayo.

Luego de transcurrido el tiempo de reposo, se procedió al filtrado con una malla de 0,5 mm de diámetro y se obtuvieron tres soluciones de $11,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $17,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ y $22,9 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ respectivamente.

Test de mutación y recombinación somática en alas de *Drosophila melanogaster*

Se utilizó la metodología propuesta por Graf *et al* (1998), para lo cual se realizaron cruces estándar entre 100 hembras

vírgenes de la cepa *flr³/In(3LR) TM3, rip^p sep I(3)89Aa bx^{34e} y Bd^S* y 50 machos de la cepa *mwh/mwh*, se depositaron en proporción de dos hembras por cada macho y se colocaron en medio ovopositor (Graf et al., 1984; Deepa Parvathi et al., 2011).

Se seleccionaron al azar un total de 500 larvas de tercer estadio que fueron separadas en 100 larvas para cada tratamiento. De las cuales 400 fueron expuestas a tratamiento agudo durante 6 horas con el mutágeno (0,3 g celulosa microcristalina Avicel® PH 102 rehidratado con 1,5 mL de Ciclofosfamida

2,61 mg.mL⁻¹) para inducir a mutaciones, 100 larvas fueron tratadas por 6 horas con agua destilada como control (0,3 g de celulosa microcristalina Avicel® PH 102 rehidratado con 1,5 mL de agua destilada). Transcurridas 6 horas de tratamiento agudo, las larvas fueron lavadas con agua destilada a modo de deshacer restos del mutágeno y fueron transferidas a medios que contenían las diluciones del mucilago durante 46 horas, estos fueron divididos en 5 postratamientos (1,5 g de puré de papa instantáneo rehidratados con diluciones especificadas en la **Tabla 1**).

Tabla 1: Diseño de los tratamientos

Unidad Experimental	Número de larvas utilizadas	Postratamientos	Tratamientos
T1	100 ^A	5 mL de agua destilada	T1: Agua destilada (Control)
T2	100 ^B	5 mL de agua destilada	T2: Ciclofosfamida 2,61 mg.mL ⁻¹
T3	100 ^B	5 mL de 11,5 mg. mL ⁻¹	T3: Ciclofosfamida 2,61 mg.mL ⁻¹ + 11,5 mg.mL ⁻¹
T4	100 ^B	5 mL de 17,1 mg. mL ⁻¹	T4: Ciclofosfamida 2,61 mg.mL ⁻¹ + 17,1 mg.mL ⁻¹
T5	100 ^B	5 mL de 22,9 mg. mL ⁻¹	T5: Ciclofosfamida 2,61 mg.mL ⁻¹ + 22,9 mg/mL ⁻¹

^A Tratamiento previo con agua destilada por 6 horas.

^B Tratamiento previo con Ciclofosfamida 2,61 mg.mL⁻¹ por 6 horas.

Transcurridos 72 horas luego del postratamiento, se seleccionaron al azar individuos adultos trans-heterocigotos *mwh+/+flr³* de los cuales se extrajeron las alas y se montaron en láminas con ayuda de la solución de Faüre (Goma arábica 300 g, Glicerol 20 mL, Hidrato de Cloral 50 g, y Agua destilada 50 mL). Las observaciones se realizaron a un aumento de 400X con microscopios ópticos

Motic®. Se analizaron las secciones A, B, C', C, D', D y E de cada ala, incluyendo los márgenes que separan estas regiones según las recomendaciones de Rodrigues de Andrade et al (2004).

Se mantuvieron los criterios sugeridos por Graf et al (1984) para la clasificación de los clones mutantes, según su clase y tamaño en manchas pequeñas simples (MSP) que incluyen una o dos células

mutadas (*mwh* o *flr*³); manchas simples grandes (MSG) con más de 3 células mutadas (*mwh* o *flr*³) y manchas gemelas (MG) con un área *mwh* y otra *flr*³ adyacentes.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron mediante tablas estadísticas de acuerdo con Frei y Würzler (1988) que corresponde a un modelo estadístico Binomial Condicional (Test de Kastenbaum-Bowman) $\alpha=\beta=0,05$ (Kastenbaum y Bowman, 1970). Los gráficos estadísticos se realizaron con el software GraphPad Prism 6.00, La Jolla California USA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fueron encontradas un total de 11 clones mutantes en las alas de individuos tratados con Ciclofosfamida 2,61 mg.mL⁻¹ y 3 clones en el control, siendo la frecuencia de los mismos 1,10 y 0,30 respectivamente. Se contabilizaron 7 clones en total para el postratamiento con 11,5 mg.mL⁻¹, 6 clones mutantes para el tratamiento con 17,1 mg.mL⁻¹, el cual fue de menor cantidad, y 9 clones para el tratamiento con 22,9 mg.mL⁻¹, los cuales presentaron frecuencias de 0,70, 0,60 y 0,90 respectivamente. Se identificaron todos los tipos de clones mutantes (MSP, MSG y MG) en las alas observadas (Fig. 1).

La frecuencia de aparición de clones MSP para el tratamiento con el mutágeno y el control fueron 0,80 y 0,20 respectivamente. Sin embargo, en el tratamiento con 17,1 mg.mL⁻¹ disminuyó su frecuencia de aparición a 0,40 siendo este el que presentó mayor reducción. No obstante, solo existió una pequeña

reducción para los tratamientos con 11,5 mg.mL⁻¹ y 22,9 mg/mL⁻¹ siendo 0,60 para ambos, es importante destacar que estas disminuciones no fueron significativas.

La cuantificación de clones del tipo MSG no arrojó diferencias significativas en las frecuencias de aparición de las mismas. En los tratamientos con 17,1 mg.mL⁻¹ y 22,9 mg/mL⁻¹ no existió reducción alguna, siendo 0,20 la frecuencia de estas, solo se observó una pequeña disminución en el tratamiento con 11,5 mg.mL⁻¹ con una frecuencia igual a 0,10. Clones mutantes del tipo MG, evidenciaron una reducción total en la frecuencia para los tratamientos con 11,5 mg.mL⁻¹ y 17,1 mg.mL⁻¹, sin embargo, no se observó efecto alguno en el tratamiento con 22,9 mg/mL⁻¹ siendo la frecuencia de esta igual a la tratada con el mutágeno.

Las frecuencias del total de mutaciones (TM) disminuyeron considerablemente en todos los tratamientos, ocurriendo la mayor reducción en los tratamientos con 11,5 mg.mL⁻¹ y 17,1 mg.mL⁻¹ siendo estas del 36,37% y 45,46%. No obstante, la menor efectividad fue observada en el tratamiento con 22,9 mg.mL⁻¹ siendo esta del 18,19% (Tabla 2; Fig. 2).

La disminución de las mutaciones podría explicarse por tres mecanismos posibles, el primero es la interferencia sobre lesiones inducidas en el material genético, esto podría ocurrir por la acción que se genera sobre enzimas encargadas de la desintoxicación de mutágenos, la segunda alternativa posible es que compuestos presentes en el mucílago intervenga sobre mecanismos de reparación del material genético una vez fijados los daños ocasionados por el mutágeno (Pimentel y Cruces, 2006; Arrebola *et al.*, 2009). El tercer evento

posible es que se haya desencadenado mecanismos apoptóticos en las células afectadas por el mutágeno, esto podría ser posible gracias a compuestos como el ácido eicosapentaenoico (EPA) que es capaz de estimular la acción de caspasas y generar la apoptosis en células tumorales y ácidos grasos poliinsaturados ω -3 (ω -3 PUFAs) que tiene la misma capacidad de desencadenar el fenómeno de apoptosis, esto pudo observarse también en líneas celulares cancerígenas humanas (Espada *et al.*, 2007; Schley *et al.*, 2005).

El mucilago secretado por semillas de *S. hispanica* poseen pequeñas fracciones polifenólicas como ácidos fenólicos, isoflavonas y antocianinas, también se encontraron mayoritariamente en semillas compuestos polifenólicos y flavonoles como el ácido clorogénico, ácido cafeico, miricetina, quercetina y kaempferol, los cuales podrían también poseer actividades antígenotóxicas o anticarcinógenas (Valdivia-López y Tecante, 2015; Oliveira *et al.*, 2010; Alfredo *et al.*, 2009; Podsędek, 2007; Asadi *et al.*, 2010; Kada *et al.*, 1985).

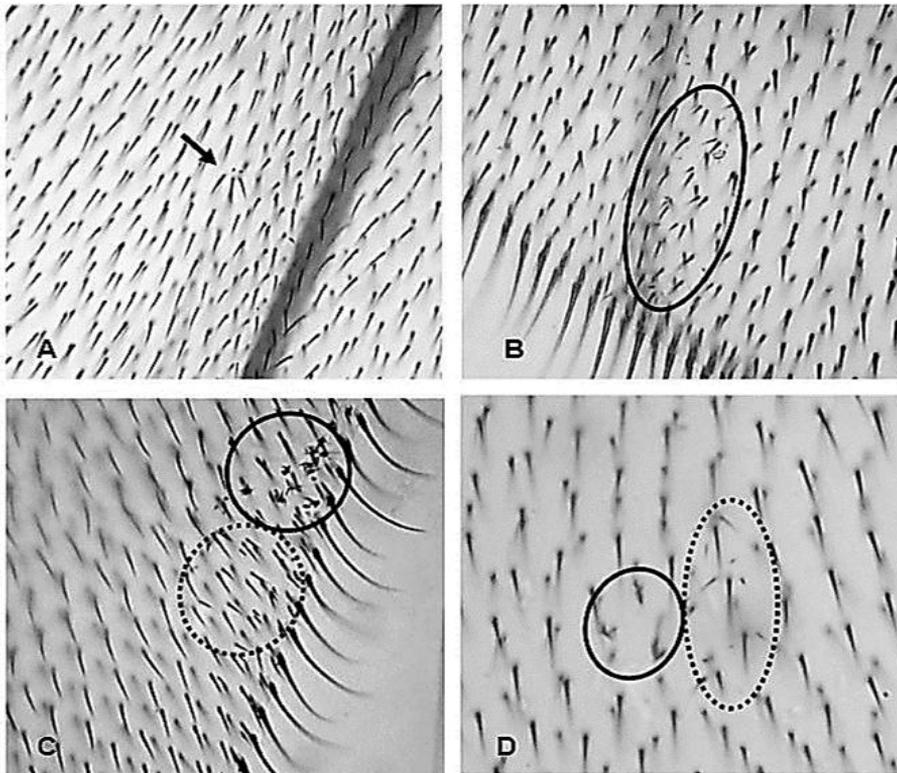


Fig. 1: Clones encontrados en alas de *Drosophila melanogaster* en postratamiento con el extracto acuoso de *Salvia hispanica*, **A.** Mancha Simple Pequeña (MSP) del tipo MWH (flecha), **B.** Mancha Simple Grande (MSG) del tipo *mwh* (círculo de línea sólida), **C-D.** Mancha Gemela (MG) del tipo *mwh* (círculo de línea punteada) y manchas de tipo *flr³* (círculo de línea sólida).

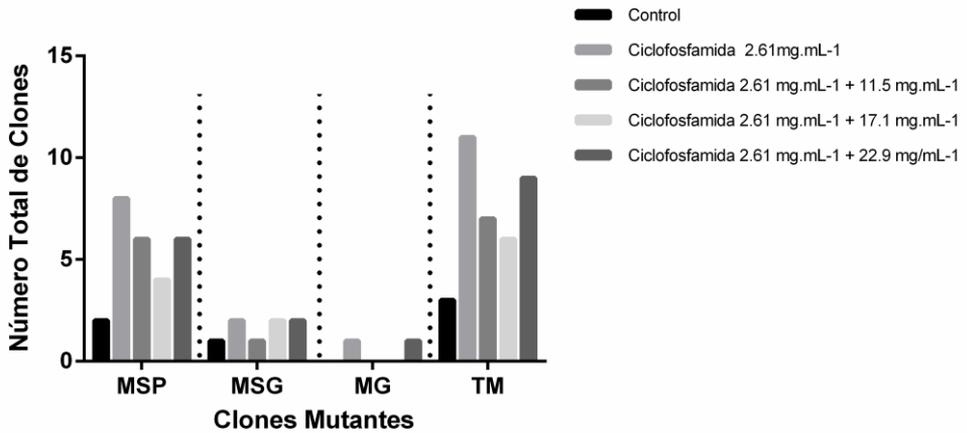


Fig. 2: Número total de clones mutantes encontrados en las alas de *Drosophila melanogaster*.

Tabla 2: Análisis estadístico del potencial antimutagénico del mucilago de *S. hispanica* en individuos *mwh+ / +flr³*.

Tratamiento	Cantidad de alas	MSP (1-2 céls) ^b <i>m</i> = 2	MSG (>2 céls) ^b <i>m</i> = 5	MG <i>m</i> = 5	TM <i>m</i> = 2	Inhibición (%)
T1	20	0,20 (02)	0,10 (01)	0,00 (00)	0,30 (03)	—
T2	20	0,80 (08) i	0,20 (02) i	0,10 (01) i	1,10 (11) +	—
T3	20	0,60 (06) i	0,10 (01) i	0,00 (00) i	0,70 (07) i	36,37
T4	20	0,40 (04) i	0,20 (02) i	0,00 (00) i	0,60 (06) i	45,46
T5	20	0,60 (06) i	0,20 (02) i	0,10 (01) i	0,90 (09) i	18,19

a. Diagnóstico estadístico de acuerdo con Frei y Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. *m*, factor de multiplicación a fin de evaluar los resultados significativamente negativos. Niveles de significancia $\alpha = \beta = 0,05$; b. Incluso las manchas simples *flr³* raras; c. Considerando los clones *mwh* para las manchas simples *mwh* y para las manchas gemelas.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos evidencian que el mucilago, secretado por las semillas de *Salvia hispanica*, posee potencial antimutagénico ya que a distintas concentraciones del extracto acuoso del mismo han disminuido el número de mutaciones inducidas en los individuos trans-heterocigotas *mwh+ / +flr³* de *Drosophila melanogaster* en comparación

con aquellas tratadas solos con el mutágeno (Ciclofosfamida). Tales resultados sustentan lo descrito por Alfredo et al (2009) y Asadi et al (2010), quienes demostraron las actividades antioxidantes del mucilago frente a distintos tipos de compuestos capaces de generar radicales libres o inducir mutaciones.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros sinceros agradecimientos a las siguientes instituciones: Universidad Nacional de Asunción, por el financiamiento de esta investigación a través de la Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica (DGICT) y a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN) por la ayuda y facilidades ofrecidas para el desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS

- Alfredo, V.O.; Gabriel, R.R.; Luis, C.G.; David, B.A. 2009. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *LWT-Food Science and Technology* 42(1): 168-173. doi: 10.1016/j.lwt.2008.05.012
- Arrebola, D.F.A.; Fernández, L.A.R.; Feria, Y. L.; Rivero, D.D. 2009. Las plantas, fuente de agentes antimutagénicos y quimiopreventivos. *Revista de toxicología en línea* 21: 37-51.
- Asadi, S.; Ahmadiani, A.; Esmaeili, M. A.; Sonboli, A.; Ansari, N.; Khodagholi, F. 2010. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: a comparative study. *Food and chemical toxicology* 48(5): 1341-1349. doi: 10.1016/j.fct.2010.02.035
- Ayerza, R.; Coates, W. 2011. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chía (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products* 34(2): 1366-1371. doi: 10.1016/j.indcrop.2010.12.007
- Ayerza, R.; Coates, W.; Lauria, M. 2002. Chia seed (*Salvia hispanica* L.) as an omega-3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. *Poultry Science* 81(6): 826-837. doi: 10.1093/ps/81.6.826
- Cvetkovikj, I.; Stefkov, G.; Acevska, J.; Stanoeva, J. P.; Karapandzova, M.; Stefova, M.; Dimitrovska, A.; Kulevanova, S. 2013. Polyphenolic characterization and chromatographic methods for fast assessment of culinary *Salvia* species from South East Europe. *Journal of Chromatography A* 1282: 38-45. doi: 10.1016/j.chroma.2012.12.068
- Da Silva M., R.; Moura, C.S.; Moraes, E. A.; Lenquiste, S.A.; Lollo, P.C.B.; Morato, P.N.; Amaya-Farfan, J.; Maróstica, M. R. 2015. Chia (*Salvia hispanica* L.) enhances HSP, PGC-1 α expressions and improves glucose tolerance in diet-induced obese rats. *Nutrition* 31(5): 740-748. doi: 10.1016/j.nut.2014.11.009
- Deepa Parvathi, V.; Akshaya Amritha, S.; Mathangi, R.; Swarna R.; Solomon, F. 2011. Wing Somatic Mutation and Recombination Test (SMART) in *Drosophila*. *Advanced Biotech* 10(3): 22-24.
- Diwakar, G.; Rana, J.; Saito, L.; Vredeveld, D.; Zemaitis, D.; Scholten, J. 2014. Inhibitory effect of a novel combination of *Salvia hispanica* (chia) seed and *Punica granatum* (pomegranate) fruit extracts on melanin production. *Fitoterapia* 97: 164-171. doi: 10.1016/j.fitote.2014.05.021

- Di Sapio, O.; Bueno, M.; Busilacchi, H.; Severin, C. 2008. Chía: importante antioxidante vegetal. *Agromensajes de la Facultad* 56: 11-13.
- Di Sapio, O.; Bueno, M.; Busilacchi, H.; Quiroga, M.; Severin, C. 2012. Caracterización morfoanatómica de hoja, tallo, fruto y semilla de *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 11(3): 249-268.
- Espada, C.E.; Berra, M.A.; Martinez, M.J.; Eynard, A.R.; Pasqualini, M.E. 2007. Effect of Chia oil (*Salvia hispanica*) rich in ω -3 fatty acids on the eicosanoid release, apoptosis and T-lymphocyte tumor infiltration in a murine mammary gland adenocarcinoma. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 77(1): 21-28. doi: 10.1016/j.plefa.2007.05.005
- Fernandez-Panchon, M.S.; Villano, D.; Troncoso, A.M.; Garcia-Parrilla, M.C. 2008. Antioxidant activity of phenolic compounds: from *in vitro* results to *in vivo* evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48(7): 649-671. doi: 10.1080/10408390701761845
- Frei, H.; Würgler, F.E. 1988. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects* 203(4): 297-308. doi: 10.1016/0165-1161(88)90019-2
- Graf, U.; Würgler, F.E.; Katz, A.J.; Frei, H.; Juon, H.; Hall, C.B.; Kale, P.G. 1984. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 6 (2):153-188. doi: 10.1002/em.2860060206
- Graf, U.; Abraham, S.K.; Guzmán-Rincón, J.; Würgler, F.E. 1998. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 402(1): 203-209. doi: 10.1016/S0027-5107(97)00298-4
- Kada, T.; Kaneko, K.; Matsuzaki, S.; Matsuzaki, T.; Hora, Y. 1985. Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens: a case of the green tea factor. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 150(1): 127-132. doi: 10.1016/0027-5107(85)90109-5
- Kastenbaum, M.A.; Bowman, K.O. 1970. Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 9(5): 527-549. doi:10.1016/0027-5107(70)90038-2
- Muñoz, L.A.; Cobos, A.; Diaz, O.; Aguilera, J.M. 2012. Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. *Journal of food Engineering* 108(1): 216-224. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.06.037
- Oliveira, T.B.; Salazar, K.A.A.; Da Silveira Duarte, S.M.; Moreira, D.A.C.; De Paula, F. B. A. 2010. Avaliação da atividade antioxidante e antimutagênica do polvilho de lobeira (*Solanum lycocarpum* St. Hill) *in vivo*. *Revista brasileira de análises clínicas* 42(4): 297-301.
- Pimentel-Peñaloza, A.E.; Cruces-Martínez, M. P. 2006. Acción modificadora de la

- Clorofilina de daño genético. *Contacto nuclear* 43:15-18.
- Podsędek, A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology* 40(1): 1-11. doi: 10.1016/j.lwt.2005.07.023
- Reyes-Caudillo, E.; Tecante, A.; Valdivia-López, M.A. 2008. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chemistry* 107(2): 656-663. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.08.062
- Rodrigues De Andrade, H.H.; Reguly, M. L.; Lehmann, M. 2004. Wing somatic mutation and recombination test. En *Drosophila Cytogenetics Protocols*, Ed. D. S. Henderson, 389-412. Humana Press. Totowa. New Jersey.
- Schley, P.D.; Jijon, H.B.; Robinson, L.E.; Field, C.J. 2005. Mechanisms of omega-3 fatty acid-induced growth inhibition in MDA-MB- 231 human breast cancer cells. *Breast cancer research and treatment* 92(2):187-195. doi: 10.1007/s10549-005-2415-z
- Segura-Campos, M.R.; Salazar-Vega, I.M.; Chel-Guerrero, L. A.; Betancur-Ancona, D.A. 2013. Biological potential of chia (*Salvia hispanica* L.) protein hydrolysates and their incorporation into functional foods». *LWT-Food Science and Technology* 50(2): 723-731. doi: 10.1016/j.lwt.2012.07.017
- Valdivia-López, M.Á.; Tecante, A. 2015. Chia (*Salvia hispanica*): A Review of Native Mexican Seed and its Nutritional and Functional Properties. *Advances in food and nutrition research* 75: 53-75. doi: 10.1016/bs.afnr.2015.06.002

CONTENIDO POR SECCIONES

Biotecnología

- 3 – 8 Evaluación *in vitro* del potencial de *Trichoderma* sp. empleando hidrocarburos como fuente principal de Carbono
Reyes, Y.; Quintana, S.; Cabrera, M.; Vázquez, L.; Arrúa, A.; Martínez, L.

Botánica Económica

- 9 – 30 Algunos aspectos ecológicos y de aprovechamiento de ciertas especies arbóreas y arbustivas en el área de influencia de los Arroyos Caañabé y Mbaey, Departamento de Paraguari-Paraguay
Benítez, B.; Bertoni, S.

Fisiología Vegetal

- 31 – 43 Embriogénesis cigótica *in vitro* de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd ex Mart. en medios con bencilaminopurina y carbón activado
Fiori Fernández, C.; Díaz Lezcano, M.I.; González Segnana, L.R.

Micología

- 43 – 49 Nuevos registros de *Calvatia rugosa* (Berk. & M.A. Curtis) D.A. Reid y *Vascellum pampeanum* (Speg.) Homrich (Agaricaceae-Basidiomycota) en Paraguay
Campi, M.; Maubet, Y.

Toxicología

- 50 - 58 Actividad antimutagénica de *Salvia hispanica* sobre mutaciones y recombinaciones somáticas en *Drosophila melanogaster*
Gayozo, E.; Rivarola, C.; Marín Insfrán, L.; Filizzola, N.