

Steviana



Tallo de *Thinouia compressa* Radlk.

Herbario FACEN
Departamento de Biología
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad Nacional de Asunción

Steviana, Vol. 2, 2010

DIRECCIÓN GENERAL Y RESPONSABLE INSTITUCIONAL:

Constantino Nicolás Guefos K. Decano

EDITOR:

Bonifacia Benitez de Bertoni

COMITÉ CIENTÍFICO:

Griselda Marín Ojeda
Gloria Delmás de Rojas
Cecilia Romero de Canese
Claudia Pereira Sühsner

ASISTENTES DE EDICIÓN:

Claudia Pereira Sühsner
Fidelina González Martínez

REVISORES VOL.2, 2010:

María Vera, FACEN-UNA
Fredy Gómez, FACEN-UNA
Danilo Fernández, FACEN-UNA
Hector Nakayama, CEMIT-UNA

DIRECCIÓN OFICIAL

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

Steviana, Vol. 2, 2010

Páginas	Contenido
3-11	Estudios preliminares micrográficos e histoquímicos en hojas de <i>Jungia floribunda</i> Less. (Asteraceae), de uso medicinal. <i>Christian Dujak R., Yolanda Lopez, Gloria Delmas, Cecilia Araujo</i>
12-18	Morfoanatomía cualitativa foliar y caulinar de <i>Aloysia gratissima</i> (Gill.& Hook) Troncoso (Poleo'i) comercializada como medicinal en el mercado 4 de Asunción, Paraguay. <i>Claudia Pereira S., Fidelina González, Bonifacia Benítez</i>
19-30	Evaluación del potencial citotóxico de <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Arecaceae). <i>Virginia Fernandez, Luciana Sales, Jorge Alfonso, Deidamia Franco, Ana Gomez, Claudia Pereira, Danila López, Francisco Cabañas</i>
31-44	Plantas utilizadas como barbasco por algunas comunidades indígenas del Paraguay <i>Marcelo Dujak M., Pamela Marchi</i>
45-54	Screening fitoquímico preliminar de <i>Chloroleucon tenuiflorum</i> (Benth.) Barneby & J.M. Grimes <i>Miguel Martínez, Claudia Pereira, Fidelina González, Bonifacia Benítez F.</i>
55-67	Morfología y micrografía del ka'a he'e, <i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni) Bertoni, provenientes de cultivares de Concepción, Paraguay. <i>Bonifacia Benítez, Claudia Pereira, Fidelina González, Carlos Molinas, Siemens Bertoni</i>

Estudios preliminares micrográficos e histoquímicos en hojas de *Jungia floribunda* Less. (Asteraceae), de uso medicinal.

Christian Dujak R.¹, Yolanda Lopez¹, Gloria Delmas¹, Cecilia Araujo²

¹Laboratorio de Botánica. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales- Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

²Laboratorio de Química Analítica I. Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

E-mail del autor: cedujak@hotmail.com

Estudios preliminares micrográficos e histoquímicos en hojas de *Jungia floribunda* Less. (Asteraceae), de uso medicinal. *Jungia floribunda* Less. Es una planta medicinal, conocida con el nombre común "jaguarete po"; es posible encontrarla en los Departamentos de Central, Caazapá, Caaguazú, Amambay, correspondiente a la Región Oriental del Paraguay y países limítrofes. En la actualidad aún no ha sido estudiada en cuanto a su composición micrográfica, química y su actividad biológica. Por ello se llevó a cabo el análisis micrográfico e histoquímico de la hoja. Se cita según el uso popular con propiedades medicinales; tales como, antiinflamatorio, purificador de la sangre, acciona contra infecciones internas y antitusígenas. En la estructura anatómica foliar se han identificado estructuras secretoras con contenido oleoso y abundantes cristales de oxalato de calcio en células. Cabe resaltar que el presente estudio podrá ser objeto de un posterior análisis de mayor complejidad.

Palabras claves: micrografía - histoquímica - plantas medicinales - *Jungia floribunda* Less.

Preliminary studies in micrographs and histochemical *Jungia floribunda* Less. (Asteraceae) leaves, for medicinal use. *Jungia floribunda* Less. It is a medicinal plant, known by the common name of "jaguarete po". It can be found in the Departments of Central, Caazapá, Caaguazú, and Amambay, in the Eastern Region of Paraguay and neighboring countries. Today it has not been studied in terms of its micrographic and chemical composition and its biological activity. Therefore been made histochemical and micrograph analysis of the leaf have been made. It is cited by popular use with medicinal properties, such as anti-inflammatory, blood purifier, its effects against internal infections and as an antitussive. In the leaf anatomical structures, secretory structures with oily content and abundant calcium oxalate crystals in cells were identified. It should be noted that this study may be subject to further and more complex analysis.

Key words: micrography – histochemistry – medicinal plants - *Jungia floribunda* Less.

INTRODUCCIÓN

Una gran cantidad de plantas silvestres son usadas en la medicina tradicional, muchas de ellas son propias de esta región (Paraguay y países vecinos), mientras otras son originarias de Europa y otros continentes, aproximadamente el 20% (Pin

et al, 2009). *Jungia floribunda* Less. conocida con el nombre común "jaguarete po", es una hierba o sufrutice de hasta 3 m de altura con hojas 7-10-lobuladas, de margen recortado, con o sin estipulas, estipulas multilobuladas, glabras en el haz, blanco pubescentes en el envés. Posee capítulos en cimas contraídas en el ápice de

las ramitas, de aspecto escorpioide, formando una pseudopanoja. Involucro 2-seriado. Flores blanco crema, 8-12 por capítulo. Aquenios atenuados en el ápice y papus plumoso (Katinas et al, 1995). Es una planta distribuida en la Región Oriental del país (Central, Caazapa, Caaguazu, Amambay) y países limítrofes (Bolivia, sur de Brasil, Uruguay y nordeste de Argentina), crece en los claros de los bosques y a orillas de cursos de aguas (Soria et al, 2005).

Según el uso popular es de carácter medicinal, presentan propiedades que aceleran la cicatrización, regulación del nivel de glucosa en sangre y contra infecciones internas y antitusígenas. En la actualidad aún no ha sido estudiada su composición y actividad biológica de la *J. floribunda* Less, pero sí en la especie *J. paniculata* (D'Agostino et al, 1995). Teniendo en cuenta tal mención se estudió y analizó por medio de técnicas preliminares micrográficas e histoquímicas en hojas de la *J. floribunda* Less, para convalidar los resultados obtenidos con el uso popular que se observa, y pretender contribuir al conocimiento químico y anatómico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de muestras

Las especies se colectaron en la ciudad de Piribebuy, Departamento Cordillera, fueron procesadas y prensadas para su posterior secado. El espécimen testigo se encuentra depositado en el Herbario FACEN. El material vegetal contenía sólo partes foliares y un sistema radicular, teniendo en cuenta que la especie no se encuentra en época de floración. Las mismas han sido identificadas taxonómicamente por

el encargado del vivero del Jardín Botánico de Asunción, Ing. Germán González.

Estudio Micrográfico

Para el estudio de la anatomía foliar, se realizaron cortes transversales a mano alzada en la parte media incluyendo la nervadura principal de *J. floribunda* Less. Estos fueron tratados con hipoclorito de sodio al 50% para su clarificación durante un periodo de 4 a 5 minutos, posteriormente lavada con agua destilada y teñidas para su observación con azul de metileno. Los cortes fueron montados empleando gelatina-glicerina y bálsamo de Canadá.

Técnicas histoquímicas

Para la determinación del contenido celular ergástico, se procedió a utilizar técnicas histoquímicas según (D'Ambrogio et al, 1986).

Se realizaron varios cortes transversales de la hoja, empleando una serie de reactivos o compuestos que determinan la presencia o no de contenidos celulares ergásticos. Para detectar la presencia del almidón se utilizó lugol que tiñen de un color azul o azul violáceo (a veces muy oscuro, casi negro). Para grasas y aceites se utilizó el Reactivo Sudán III donde los lípidos se colorearon de rojo intenso. Para detectar mucílagos se usó azul de metileno que colorea la epidermis de un color azul Francia. El ácido pícrico para detectar alcaloides, el ácido precipita dando sales cristalinas características del picrato correspondiente al alcaloide. Para resinas con una solución acetato de cobre donde la presencia de resina colorea en verde esmeralda. Para taninos se utilizó formol al 10 % y sulfato férrico, dando una coloración azul verdosa. Para aleurona, con

el Xileno hace evidencia la forma globoide. Para determinar la presencia de cristales de oxalato de calcio se utilizó el ácido clorhídrico que reacciona dando diferentes formas de cristales (drusas, arena cristalina, rafidios o prismáticos simples). Todas las muestras fueron observadas al microscopio Óptico con un aumento de 200x a 400x.

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Análisis Micrográfico

Corte transversal de la hoja

Epidermis: superior uniestratificada de células prismáticas con paredes levemente convexas (Fig.1). Cutícula levemente gruesa y lisa con abundantes pelos eglandulares. Epidermis inferior con células similares al superior, pero ligeramente de menor tamaño y aparentemente irregular en las depresiones donde se encuentran los tricomas eglandulares en abundancia; y uno o dos pelos glandulares de pie corto y cabeza globosa (Fig.5).

El mesófilo: dorsiventral, constituido por un estrato de células en empalizada alargadas, con poco espacio intercelular con abundante drusas, y el esponjoso de forma

redondeada, poco espacio intercelular y con menor presencia de drusas. (Fig.2)

Dentro de este estrato celular se encuentran amplias estructuras secretoras situadas generalmente entre hacecillos secundarios (Fig. 4a)

La nervadura central tanto en la epidermis adaxial y abaxial se encuentran gran cantidad de pelos eglandulares y más prominente hacia la superficie abaxial (Fig.1). El colénquima laminar se encuentra en ambas epidermis, con 4-5 hileras en la superior y 3-4 hileras en la inferior (Fig.3). En las células del parénquima se encuentran dispersos algunos cristales en forma de drusas y algunas diminutas gotas oleíferas (Fig.6).

El haz vascular central se encuentra situado más hacia la parte abaxial rodeado por dos casquetes de fibras esclerenquimáticas, quedando incluida esta estructura secretora encima del floema. En la cara adaxial se encuentran 3-4 hacecillos secundarios más pequeños, también con estructuras secretoras protegidas por estas fibras (Fig.1), encontrándose dispersos a ambos lados laterales del haz vascular central, con pequeñas diminutas gotas oleíferas en sus cavidades (Fig.4b).

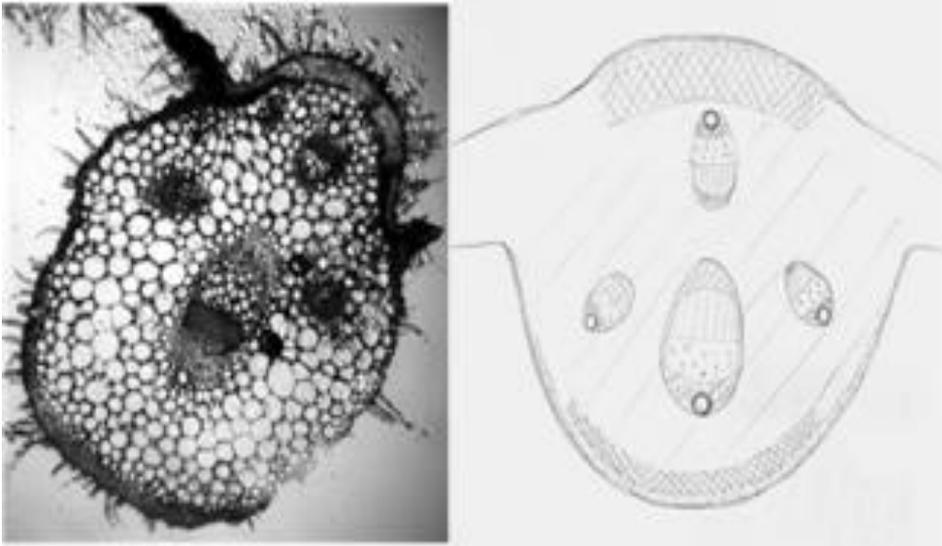


Fig.1. Sección transversal de la nervadura principal de la hoja *Jungia floribunda* Less. 40x.

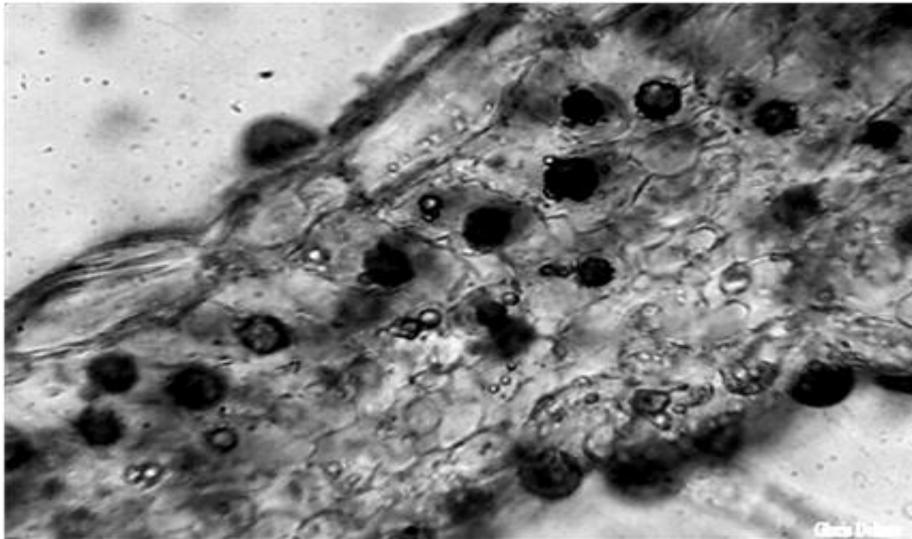


Fig.2. Sección transversal de la hoja. Mesófilo (Parénquima empalizada y lagunar). 200x.

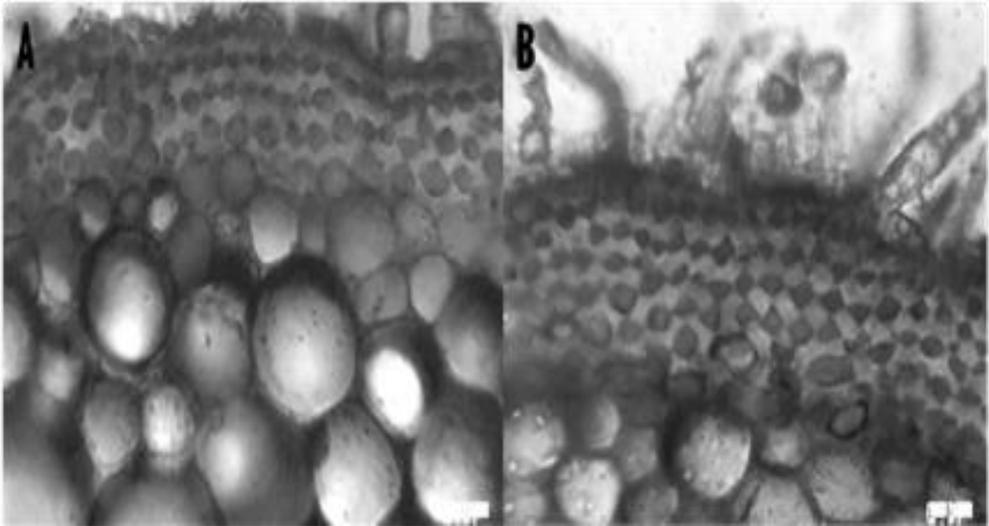


Fig.3. Sección transversal de la nervadura principal de la hoja *Jungia floribunda* Less.
A. Colenquima laminar, epidermis inferior. *B.* Colenquima laminar, epidermis superior. 200x.

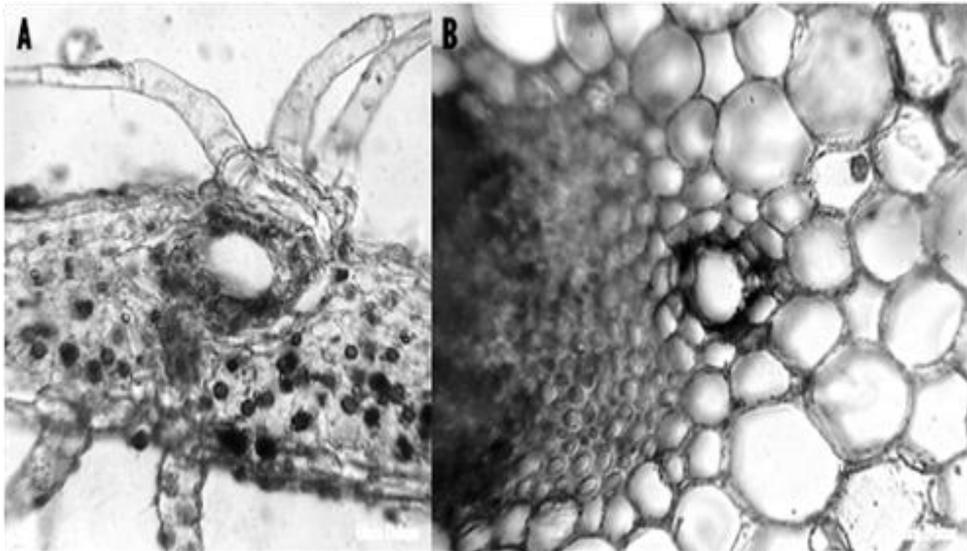


Fig.4. Sección transversal de la hoja. Canales glandulares secretores. *A.* en mesófilo, 100x.
B. en nervadura principal, 200x

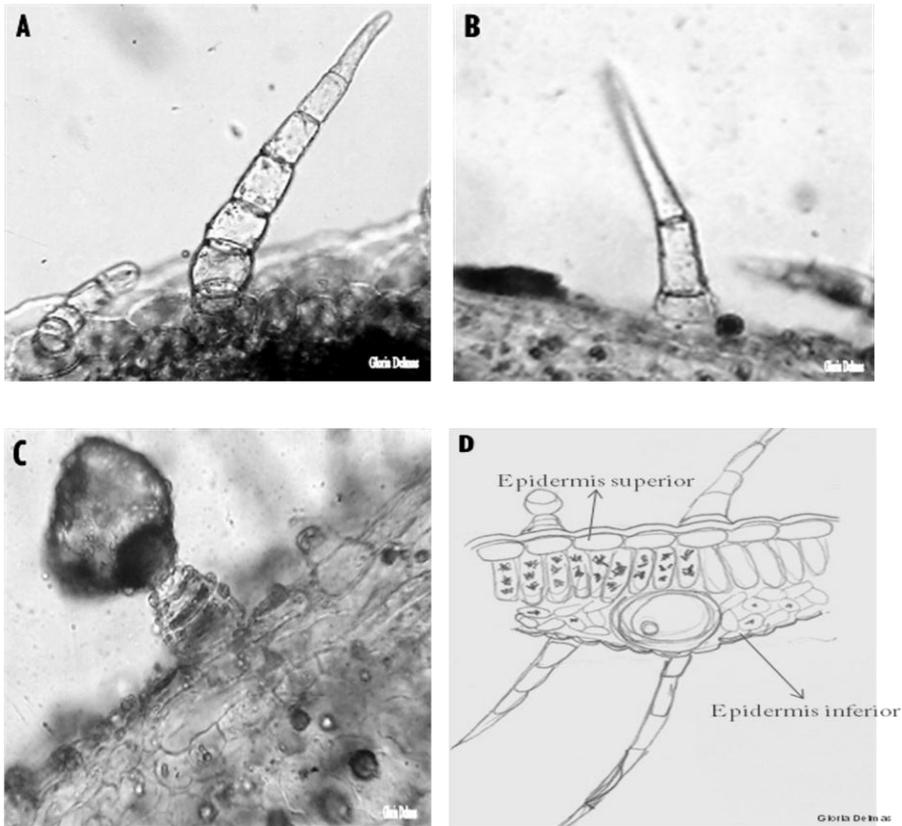


Fig.5. Sección transversal de la hoja, **A.** Pelo glandular, epidermis superior, **B.** Pelo glandular, epidermis inferior, **C.** Tricoma glandular, epidermis superior, **D.** Diseño esquemático. Tipos de pelos. 400x.

Análisis histoquímico

Mediante las técnicas empleadas se confirmó la presencia de aceites que se hallan en el estado de diminutas gotas dentro de las células, y en estructuras secretoras presentes en el mesófilo, parénquima y en cada haz vascular (Fig.1 y 6).

Los aceites, producidos por estructuras secretoras tienen localización extracelular e intracelular, ante el menor rompimiento de la cutícula permiten la volatilización que exteriorizan su característica de fragancias propias de compuestos terpénicos (aceites

esenciales), mediante el proceso de infusión de las hojas de *J. floribunda* Less.

Se identificó la presencia de cristales de oxalato de calcio (muy abundantes) tanto en la nervadura principal como en el mesófilo, estas moléculas forman drusas, apariencia estrellada que se hallan en el tejido parenquimatoso (Fig.7). La cristalización está asociada con algún tipo de sistema de membrana: se forman complejos membranosos en el interior de la vacuola, que luego originan las cámaras en las que se desarrollan los cristales. También pueden formarse en vesículas derivadas de los

dictiosomas o del RE o producidas por invaginación de la membrana plasmática. (Franceschi & Horner Jr., et al, 1980).

En el remanente de los cortes, no se ha

observado ningún cambio que indique la presencia de algún otro contenido celular ergástico.

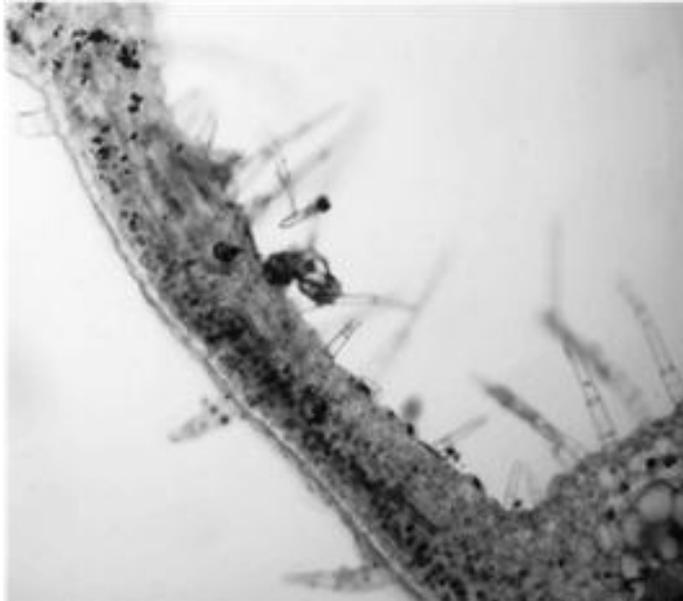


Fig. 6. Sección transversal de la hoja *Jungia floribunda* Less. Identificación de contenidos oleíferos (Sudan III). 200x.

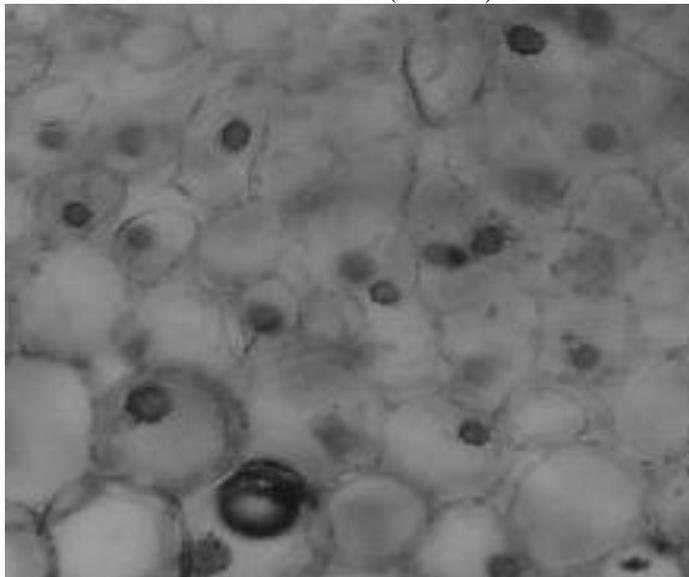


Fig.7: Sección transversal de la hoja, Oxalato cálcico (Drusas; forma estrellada). 400x

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos más resaltantes de la hoja en *Jungia floribunda* Less. fueron: la presencia de sustancias oleosas dispuestas en estructuras secretoras presentes en el mesófilo, parénquima y en cada haz vascular; así como abundantes cristales de oxalato de calcio (drusas). Concluida la identificación en el presente trabajo, se procederá posteriormente a la extracción, purificación del principio activo y el análisis micrográfico en tallo, peciolo, flor, fruto de *Jungia floribunda* Less.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso, Jorge. et al. 2004. Tratado de Fitofarmacos Nutracéutico. 1ª Ed. Editorial Corpus. Argentina. 80-95 p.p.
- Acosta de la Luz, D; L. & Rodríguez F, C. 2002. Instructivo técnico para el cultivo de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Vicaria. SCIELO: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962002000200008&script=sci_arttext.
- Baldomero E & col. Abietane Diterpenoids from the Roots of some Mexican *Salvia* Species (Labiatae): Chemical Diversity, Phytogeographical Significance, and Cytotoxic Activity. Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior de Ciudad Universitaria, Coyoacán. México.
- Barrese P, Yinete; Hernandez J, María; Garcia P, Oscar. 2005. Caracterización y estudio fitoquímico de *Cassia alata* L. *Rev Cubana Plant Med* [online]. vol.10, n.2, p.p. 0-0. ISSN 1028-4796.
- Bianco, Cesar; Kraus, Teresa; Vegetti, Abelardo. 2004. La hoja. Morfología externa y anatomía. Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina. 196p.p.
- D' Ambrogio, A. 1986. Manual de técnicas en la histología vegetal. Hemisferio Sur. S.A. Buenos Aires. 15-45 p.p.
- D' Angostino, A; Senatore, F; De Feo, V., De Simone, F. 1995. Flavonol Glycoside from *Jungia paniculata*, *Fitoterapia*. Vol. 56(3), 283-284 p.p.
- Domínguez, X. 1978. Métodos de investigación Fitoquímica. 1ª Ed. Editorial Limosa. México. 39-90 p.p.
- Evans, W.C. et al. 1991. *Farmacognosia*. 13ª Ed. Interamericana-McGraw-Hill. México. 281-330 p.p.
- Esau, K; Ray, E. 2008. Anatomía Vegetal. Editorial Omega. España. 614p.
- Franceschi, V. R. & H.T. Horner Jr. et al. 1980. *Calcium oxalate crystals in plants*. *Bot. Rev.* 46 (4): 361- 427 pp.
- Fuentes V, Granda M. et al. 1995. *Conozca las plantas medicinales*. La Habana: Editorial Científico-Técnica. 315 p.p.
- Galelto, L. et al. 2009. Museo Botánico. Volumen especial: Plantas Medicinales Kurtziana. Córdoba, Argentina. Tomo 34 (1-2): 7-365 p.p.
- Gonzalez Torres, D. et al. 1992. *Catálogo de Plantas Medicinales, Alimenticias y Útiles usadas en Paraguay*. Asunción, Paraguay. 430 p.p.
- Katinas, L. et al. 1995. Asteraceae, Parte 1. Tribu XII. Mustisieae, Subtribu: Nassauviinae. En A.T. Hunziker (ed). *Flora Fanerogámica Argentina*. 13:5-54 p.p.
- Pavetti, C; Basualdo, L. et al. 1988. *Plantas Nativas de Uso en Medicina Popular en el Paraguay (Parte III)*, Suplemento *Acta Amazónica*. 18 (1-2): 39-48 p.p.
- Pin, A; González, G; Marin, G. et al. 2009. *Plantas Medicinales del Jardín Botánico*

- de Asunción. Asunción Paraguay: Asociación Etnobotánica Paraguaya.441p.
- Ragonese, A. et al.1988. Canales Secretores en los Órganos Vegetativos de *Eupatorium inulaefoliurn* H. B. K. (Compositae). Instituto de Botánica Darwinion, hvardén 200, Argentina. *Acta Farm. Bonaerense* 7 (3): 161-8 pp
- López M & col.2005.Padrón. Métodos Físicos de Separación y Purificación de Sustancias Orgánicas Dpto. de Química. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
- Soria, N; Basaldua, I. 2005. Medicina Herbolaria de la Comunidad Kavaju Kangua de Caazapá, Paraguay. 48-49 pp.
- Tressens, S; Keller, H; Revilla, V..2008. Las plantas vasculares de la Reserva de Uso Múltiple Guaraní, Misiones (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* [online]. vol.43, n.3-4. 273-293 p.p. ISSN 1851-2372.
- Valcárcel, M. J. et al.2006. Las Plantas Medicinales. Retrieved Septiembre 2007, from de Salud: http://www.dsalud.com/fitoterapia_numero17.htm.
- Valencia, Ciria. et al.1995. Fundamentos de Fitoquímica. 1era Ed. Editorial Trillas, S.A de C.V. México..23-52 p.p.
- Zuloga, F; Morrone, O. 1999. Catalogo de las Plantas Vasculares de la Republica Argentina II. Acanthaceae-Euphorbiaceae (Dicotyledoneae). Missouri Botanical Garden. Press. Vol. 74:226 p.p.

Morfoanatomía cualitativa foliar y caulinar de *Aloysia gratissima* (Gill.& Hook)Troncoso (Poleo´i), comercializada como medicinal en el mercado 4 de Asunción, Paraguay.

Claudia Pereira S.¹, Fidelina González¹, Bonifacia Benítez¹

¹Departamento de Biología. Herbario FACEN. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

E mail del autor: claudinha_7@hotmail.com

Morfoanatomía cualitativa foliar y caulinar de *Aloysia gratissima* (Gill.& Hook)Troncoso (Poleo´i), comercializada como medicinal en el mercado 4 de Asunción, Paraguay.

Aloysia gratissima pertenece a la familia Verbenaceae, es popularmente conocida como poleo´i y se distribuye dentro del territorio paraguayo en los Departamentos de Boquerón, Caaguazú, Caazapá, Central, Cordillera, Guairá, Paraguari y Presidente Hayes (Pin *et al*, 2009). Se comercializa como medicinal la parte aérea, por sus propiedades digestivas, antiespasmódicas y contra dolores menstruales. El objeto del presente trabajo es evaluar la morfo-anatomía de las partes comercializadas, a fin de obtener caracteres de relevancia taxonómica, útiles para el control de calidad de las muestras comerciales. Para el estudio se utilizaron muestras comerciales y ejemplares provenientes del Jardín Botánico de Asunción. La identificación de las especies se realizó a través de claves dicotómicas y bases de datos disponibles. Para la caracterización morfo-anatómica se siguió la metodología convencional para estos tipos de estudio. Los caracteres foliares encontrados son epidermis uniestrata con tricomas glandulares y eglandulares, las células epidérmicas de la cara adaxial son de mayor tamaño, el nervio central es mas prominente en el envés. Los caracteres caulinares observados en sección transversal son la forma del tallo subcuadrangular con ángulos redondeados y lados convexos, por debajo del colénquima y entre el parénquima aparecen casquetes de fibras esclerenquimáticas. Se resalta como carácter de relevancia taxonómica y con alto valor diagnostico en *Aloysia gratissima* a los tricomas glandulares y eglandulares.

Palabras Claves: morfo-anatomía - *Aloysia gratissima* - planta medicinal

Qualitative morpho-anatomy of the leaf and stem of *Aloysia gratissima* (Gill. & Hook) Troncoso (poleo´i), marketed as medicinal in the Market 4 of Asuncion, Paraguay.

Aloysia gratissima belongs to the family Verbenaceae, it is popularly known as poleo´i and it is distributed in Paraguayan territory in the departments of Boquerón, Caaguazú, Caazapá, Central, Cordillera, Guaira, Paraguari and Presidente Hayes (Pin *et al*, 2009). The aerial part is marketed as medicin for its digestive properties, antispasmodic and against menstrual cramps. The purpose of this study was to evaluate the morpho-anatomy of the commercial parts, to obtain relevant taxonomic characters useful for quality control of marketed samples were used. For the study used fresh specimens from the Asunción Botanical Garden and commercial samples were used. The species identification was performed using dichotomous keys and databases available. For the morpho-anatomical characterization the conventional methodology for these study types was followed. Leaf traits found are stratum epidermis with eglandular and glandular trichomes, epidermal cells on the adaxial surface are larger, and the midrib on the underside is more prominent. Stem characters seen in cross section are the subquadrangular stem form with rounded corners and convex sides, below the collenchyma and caps of sclerenchymatous fiber appear between the parenchyma. Eglandular and glandular trichomes are highlited as important taxonomic characters and high diagnostic value in *Aloysia gratissima*.

Key words: morpho-anatomy - *Aloysia gratissima* - medicinal plant

INTRODUCCION

La OMS (1978) define como planta medicinal a cualquier vegetal utilizado con fines terapéuticos o posee actividad farmacológica, adquiriendo entonces características de fármacos que deberán reunir calidad, seguridad y eficacia; por tal motivo la OMS promueve la investigación y elaboración de métodos que permitan garantizar el uso de plantas medicinales (Sandoya, 1994; Rams, 2003; Mantovani, 2007).

En nuestro país las plantas medicinales están incluidas dentro de la Política Nacional de Medicamentos del 2001. Además del decreto N° 7442/00, que estipula como requisitos del control de calidad la certificación de la identidad botánica macro y microscópica del vegetal (Degen *et. al.*, 2009).

La calidad viene dada por la garantía de autenticidad con énfasis en la identidad botánica del producto vegetal. Vista que las plantas medicinales son consideradas como medicamentos se debe tener la seguridad de su eficacia, es decir, el principio activo de una planta puede variar dependiendo de la época de colecta, los factores ambientales e incluso la forma de preservación del material, por tanto una planta puede ser toxica, presentar efectos adversos o interactuar con fármacos de síntesis, sin mencionar el riesgo indirecto en el uso de plantas medicinales sin eficacia demostrada. En cuanto a este último es importante recalcar que solo una pequeña parte está científicamente justificada (Rams *op. cit.*; Mantovani *op. cit.*)

Aloysia gratissima, pertenece a la familia Verbenaceae, es nativa de Paraguay y conocida popularmente como poleo í. Se comercializa como medicinal la parte aérea,

por sus propiedades digestivas, antiespasmódicas, contra dolores menstruales, cardiotónico, sedante y otros (Sandoya, *op. cit.*; Basualdo, 2004; Pin *et al.*, 2009).

Es un arbusto que alcanza 3 metros de altura y se distribuye dentro del territorio paraguay en los Departamentos de Boquerón, Caaguazú, Caazapá, Central, Cordillera, Guairá, Paraguarí, Presidente Hayes (Pin, *op. cit.*).

La Farmacopea Nacional Argentina (1978) lo considera al igual que otras especies de Verbenáceas y Combretáceas, como un adulterante del poleo (*Lippia turbinata* Griseb y *L. fissicalyx* Troncoso) cuyas hojas poseen propiedades digestivas, diuréticas, entre otros (Bassols *et. al.*, 1998).

Los estudios fitoquímicos revelan la presencia de polifenoles que le confieren la acción gastroprotectora a *Aloysia gratissima*. Bucciarelli y colaboradores (2007) han evaluado y comprobado dicha actividad con una inhibición de 71,6%, mediante la admisión de extractos acuosos a ratones *Mus musculus*.

Los caracteres exomorfológicos y anatómicos de la parte aérea de *Aloysia gratissima* obtenidos en el presente trabajo contribuirá a la comprobación de la identidad botánica del producto vegetal comercializado como medicinal.

MATERIALES Y METODOS

Diseño metodológico

El estudio es observacional, descriptivo y de corte transversal.

Material de estudio

Los materiales de estudios fueron muestras comercializadas en el mercado 4 de Asunción y ejemplares frescos provenientes del Jardín Botánico de Asunción.

Procesamiento del material testigo

El secado, envenenado y montaje de ejemplares fue el estándar para el procesamiento de los mismos.

Los especímenes del material testigo, Pereira, C. 33, fueron depositados en el Herbario FACEN, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción.

Identificación taxonómica

La identificación se realizó a través de claves de identificación taxonómica, utilizando material de herbario. La nomenclatura se corroboró con la Base de Datos TROPICOS (2010), disponible en la web.

Caracterización morfológica

Se realizó a través de la observación directa de las partes comercializadas, describiendo las estructuras observadas con el microscopio estereoscópico.

Caracterización anatómica

Se realizaron cortes a mano alzada de las partes comercializadas, se clarificaron con hipoclorito de sodio, se sometieron a tinción directa con safranina y finalmente se montaron en gelatina-glicerina.

Las láminas montadas en gelatina-glicerina quedaron depositadas en el herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción.

Las microfotografías fueron tomadas con cámara digital MOTICAM 352 incorporada al microscopio óptico marca OLYMPUS serie BH2, y editadas con el software Motic Images Plus 2.0 ML (2006).

Medición

Las mediciones de largo-ancho de las hojas se efectuaron con regla milimetrada y están expresadas en mm.

Las mediciones de los cortes histológicos se realizaron con el software Motic Images Plus 2.0 ML (2006) y están expresadas en μm .

RESULTADOS Y ANALISIS

El ejemplar estudiado corresponde a *Aloysia gratissima* (Gill.& Hook) Troncoso.



Fig. 1: A: Habito de *A. gratissima* B: Hojas de *A. gratissima*

Caracterización Morfológica:

Foliar

Las hojas son simples, enteras, pubescentes, forma elíptica a oval, base cuneada, ápice agudo, borde entero hacia la base y aserrado hacia el ápice, 3 – 11 mm ancho y 6 - 17 mm largo, nervio bien marcado en el envés.

Caulinar

El tallo es erecto, aéreo, más o menos cuadrangular, pubescentes y con ramificaciones simples.

Caracterización anatómica

Foliar

La epidermis es uniestratificada con paredes anticlinales onduladas, las células epidérmicas de cara adaxial son de mayor tamaño (ver Fig. 2A-B).

Por debajo de la epidermis se encuentran dos estratos de colénquima, seguidos por varias capas de parénquima (ver Fig. 2C).

No se observan cristales, coincidiendo con Bassols *et al* (1998).

El mesófilo es bifacial con simetría dorsiventral, constituido por dos tipos de parénquima, el en empalizado y el esponjoso. El primero se localiza hacia la cara adaxial, es uniestratificado con células alargadas. El parénquima esponjoso se localiza hacia la cara abaxial, compuesta por 3-4 capas de células con formas irregulares y grandes espacios intercelulares (ver Fig. 2B).

El haz vascular es del tipo colateral, rodeado por tejido parenquimático, el xilema se localiza hacia la cara adaxial y el floema hacia la cara abaxial acompañado por fibras esclerenquimáticas por fuera.

La nervadura central es más acentuada en la cara abaxial de la hoja (ver figura 2C).

Están presentes en ambas caras de la hoja dos tipos de tricomas, los eglandulares y glandulares (ver Fig. 3A-B-C).

Los tricomas glandulares poseen un pie corto con cabezuela secretora unicelular más o menos globosa (ver Fig. 3C).

Los tricomas eglandulares son simples, uniseriados, erectos, largos, compuestos de una a dos células, rodeado por una roseta multicelular uniestra y citolitos en la base (ver Fig. 3A-B).

Ambos tipos de tricomas descriptos coinciden con lo mencionado por Metcalfe & Chalk (1950), Bonzani *et al* (1997, 2003), Bassols *et al* (1998), Arambarri *et al* (2006), sin embargo no se han encontrado pelos unicelulares en forma de colmillo descripto por Bassols *et al* (1998). Es importante

mencionar que los tricomas con cojín basal fueron mencionados por primera vez para este genero por Bonzani *et al* (1997).

Caulinar

En sección transversal el tallo es subcuadrangular, con ángulos redondeados y lados convexos (ver Fig. 4A), coincidiendo con Bonzani *et al* (2003).

La epidermis es uniestratificada con tricomas eglandulares simples (ver Fig. 4C), al igual que el descripto por Bonzani *et al* (2003).

Por debajo de la epidermis, se encuentra la corteza constituida por una banda continua de colénquima, seguido de varios estratos de parénquima en el cual insinúan casquetes de fibras esclerenquimáticas (ver Fig. 4B).

En la parte central del tallo, rodeado por los haces vasculares se encuentra la médula constituida por células parenquimáticas (ver Fig. 4A)

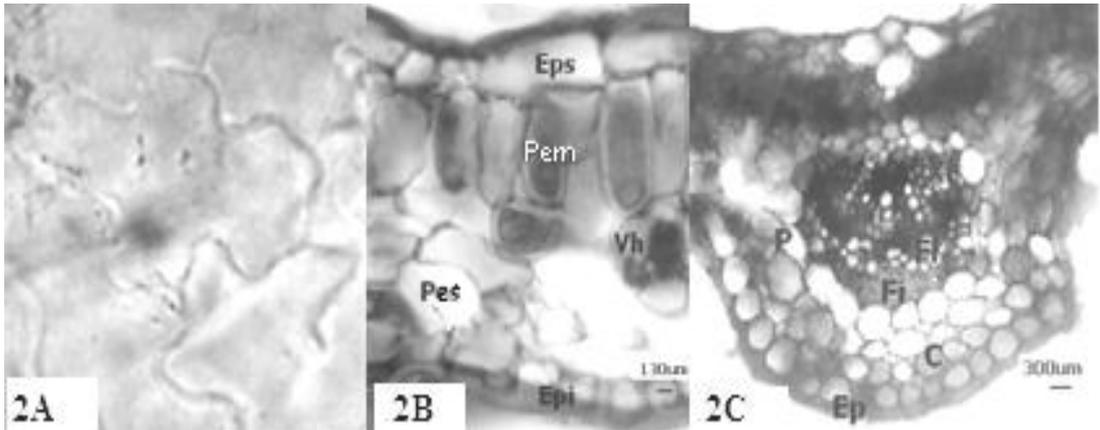


Fig. 2: A Células epidérmicas onduladas; B: Mesófilo; C Nervadura central. Referencias: Eps: epidermis superior, Epi: Epidermis inferior, Ep: epidermis, Pem: parénquima en empalizado, Pes: parénquima esponjoso, P: parénquima, Vh: vaina del haz, Xi: xilema, Fl: floema, Fi: fibras, C: colénquima.

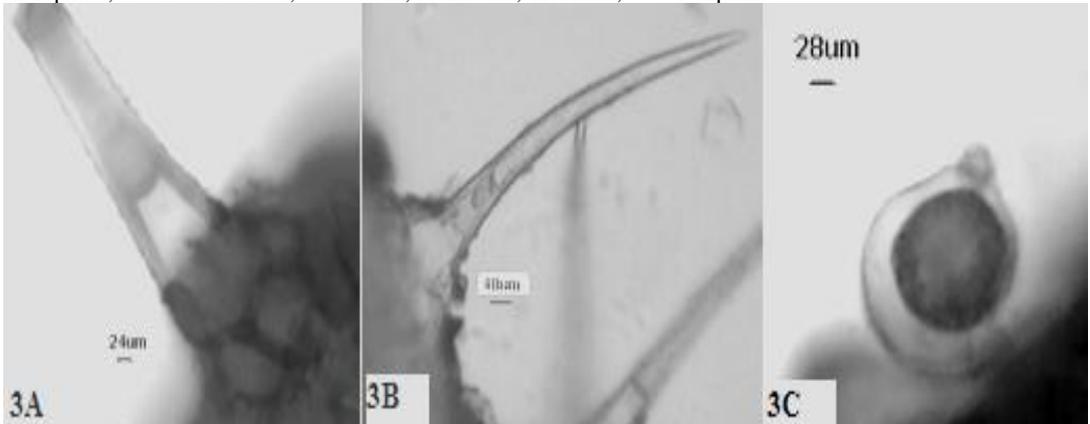


Fig. 3: A-B: Pelo eglandular; C: Pelo glandular.

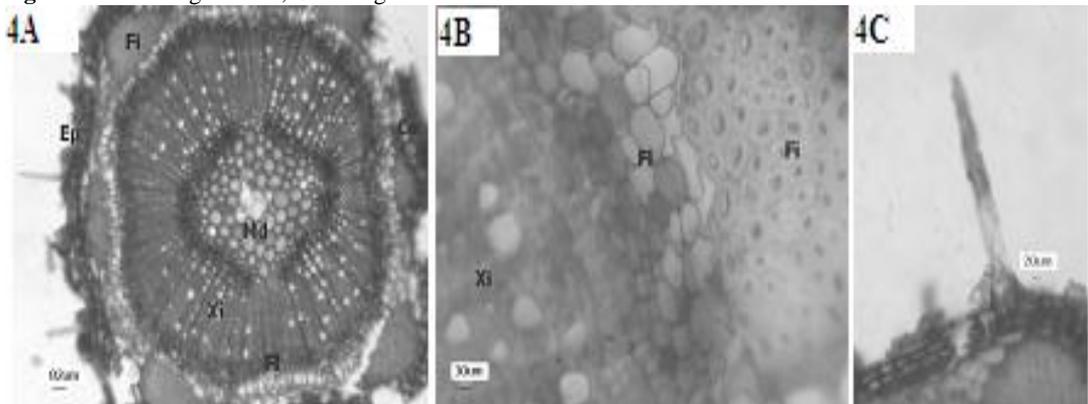


Fig. 4: A-B: Vista del tallo en sección transversal, C: Pelo eglandular. Referencias: Ep: epidermis, Fi: fibras, Fl: floema, Xi: xilema, Md: medulla.

CONCLUSION

Se concluye que los tricomas glandulares y eglandulares presentes en *Aloysia gratissima* son de relevancia taxonómica coincidiendo con Bonzani *et al* (1997,2006), Bassols *et al* (1998), Arambarri *et al* (2006), y deben ser considerados en la certificación de la identidad botánica del producto vegetal comercializado como poleo'i.

Los caracteres morfo-anatómicos foliares y caulinares estudiados en el presente trabajo contribuyen a la comprobación de la identidad botánica de productos vegetales comercializados como medicinales en Paraguay.

BIBLIOGRAFIA

- Arambarri, A; Freire, S; Colares, M. *et al*. 2006. Leaf anatomy of Medicinal Shrubs and Trees from Gallery Forests of the Paranaense Province (Argentina) Part 1. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 41(3-4): 233 – 268pp.
- Bassols, G.; Gurni, A. 1998. Posibles Adulterantes del Poleo (*Lippia turbinata* Griseb, Verbenaceae). *Acta Farm. Bonarense.* 17(3), 191-6pp.
- Bonzani, N; Filippa, E; Barboza, G. 1997. Particulares Epidérmicas En Algunas Especies de Verbenaceae. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser Bot.* 68(2), 47-56 pp.
- _____. 2003. Estudio Anatómico Comparativo de Tallo en Algunas Especies de Verbenaceae. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser Bot.* 74(1), 31-45 pp.
- Bucciarelli, A; Manzini, M; Skliar, M. 2007. Propiedades Gastroprotectoras de Plantas Medicinales Estudio Fitoquímico y Farmacológico. *Revista de la Asociación Medica de Bahia Blanca.* 17(1), 3-9 pp.
- D'Ambrogio, A. 1986. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Buenos Aires, Editorial Hemisferio Sur. 84p.
- Degen, R; González, Y; Amarilla, A. 2009. Legislación sobre Plantas Medicinales y Fitoterápicos en Paraguay: una tarea pendiente. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.* 8(1), 12-16pp.
- Farmacopea Nacional Argentina. 1978. Codex Medicamentarius Argentino, VI Edición. Bs. As., Argentina. 1283pp.
- Mantovani, I. 2007. Curarse con las plantas "Como recuperar la salud con las hierbas medicinales". 20 Ed. Bogotá Colombia: Panamericana Editorial. 96p.
- Metcalf, C; Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons.* Vol II. Clarendon Press, Oxford.
- Motic China Group. 2006. Motic Images Plus versión 2.0. Software de computadora para microscopia digital.
- Pin, A; González, G; Marin, G. et al. 2009. Plantas Medicinales del Jardín Botánico de Asunción. Asunción Paraguay: AGR Servicios Gráficos. 441p.
- Rams Pla, N. 2003. El uso de plantas medicinales. *Butletí d' Informació terapèutica.* Vol. 15(8), 31-34pp.
- Sandoya, J. N. 1994. La Cura Natural. Asunción: Editorial Promaster.
- Troncoso, N.; Botta, S. 1993. Verbenaceae. In: A. L. Cabrera (dir.). Flora de la Provincia de Jujuy 9. Colección Científica INTA, Buenos Aires, 1-117pp.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Mayo 2010 <http://www.tropicos.org>

Evaluación del potencial citotóxico de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Arecaceae)

Virginia Fernandez¹, Luciana Sales¹, Jorge Alfonso¹, Deidamia Franco¹, Ana Gomez¹, Claudia Pereira², Danila López³, Francisco Cabañas³

¹ Laboratorio de Mutagénesis Ambiental, Dpto. Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

² Dpto. Biología, Herbario FACEN, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

³ Departamento de Matemática, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

E mail del autor: virginiafernandezperalta@gmail.com – vfernandez@facen.una.py

Evaluación del potencial citotóxico de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Arecaceae). Paraguay cuenta con una gran variedad de especies nativas que son utilizadas por las poblaciones rurales e indígenas del país, ya que la flora es rica en principios activos contenidos en las raíces, hojas, ramas, flores, semillas y cortezas; que son utilizadas principalmente para consumo alimenticio y medicamento; los pobladores preparan infusiones y decoctos. Así también se usa como especias en las comidas y de los frutos se preparan jugos, maceraciones, mermeladas, dulces que son muy apreciadas por su alto contenido en valores nutricionales, pudiéndolos aprovecharlos como recurso económico y medicinal del país. En la búsqueda de plantas con efectos antitumorales (Moron Rodriguez, F. *et al*; 2004; Pérez Gil, R.M *et al*; 2005) se llegó a consultar con personas que viven en zonas rurales, conocedoras de la cultura tradicional, autóctona y popular del país. En este trabajo se determino el efecto citotóxico, antimitótico de la *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. Se ha ensayado la técnica de *Allium test* encontrándose alta frecuencia de células en interfases, células en C-Mitosis y anomalías en el ciclo celular como puentes, cromosomas adelantados, retrasados, células binucleadas y bimitosis en tratamientos de 24, 48 y 72 horas con extracto acuoso a concentración de 2,5%.

Palabras clave: *Acrocomia* - *Allium test* – citotoxico - ciclo celular - plantas comestibles

Cytotoxic evaluation of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Arecaceae). In Paraguay exists a great variety of native species, commonly used in urban and countryside regions. Population takes advantage of the resources given by local flora; which is rich in active ingredients that are found on roots, leaves, branches, flowers, seeds and cortex; which are included in the daily diet and traditional medicine, either in the preparation of infusions and decocts, as well as a spice in foods; also fruits provide juices, jams and sweets; all of them very appreciated by their high content of nutritional values essential to body metabolism; besides using them as an economic and medical resource in the country. In the search of plants with antitumoral effects, countryside populations were consulted because, cell cycle, edible plants of their knowledge of the Paraguayan traditional culture. The main goal of this study was to evaluate the cytotoxic activity of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. The *Allium test* was put into practice, finding high frequencies of interphase cells, C-mitosis cells, and abnormalities such as chromosome bridges, delayed and advanced chromosomes; binucleated cells and bimitosis; in treatments of 24, 48 and 72 hours with aqueous extract at a concentration of 2,5%.

Key words: *Acrocomia* - *Allium test* – cytotoxic - cell cycle - food plants

INTRODUCCIÓN

El Paraguay cuenta con una flora rica en productos activos, utilizada por las poblaciones rurales e indígenas y son empleadas en forma de infusiones, decoctos y macerados; estos conocimientos transmitidos de padres a hijos, formando parte de la tradición popular (Fernández, V. et al; 2009)

En América Latina, el empleo de plantas con fines curativos, es una práctica de años y se consideran como fuente valiosa para la obtención de fitofármacos y nuevas drogas antineoplásica como la Vinblastina y el Paclitaxel, que derivan de los principios activos de *Catharanthus roseus* y *Thaxus brevifolia* (Zavala, D. et al; 2006). También se puede citar, el amplio uso que tienen los frutos de algunas Arecaceae, como el de *Roystonea regia* (Kunth) O. F. Cook, en el tratamiento de la hiperplasia prostática. (Rodríguez Leyes, E. A.; 2007). Se ha evaluado los efectos del fruto de *Morinda citrifolia* L. de la familia Rubiaceae, con relación al cáncer (Moron Rodríguez, F. et al; 2004).

Actualmente muchos países están revalorando su cultura tradicional etnobotánica, por lo tanto es importante recuperar el saber popular del uso de las plantas y aprovecharlas como recurso, analizando las relaciones hombre – planta desde el punto de vista antropológico, ecológico y botánico (Monroy Vázquez, M. E. et al 2009). La Organización Mundial de la Salud (OMS), en 1.985, estructuró un programa de Medicina Tradicional Herbolaria, reconociendo la existencia de 119 compuestos químicos de origen vegetal que pueden considerarse útiles en más de 60 categorías terapéuticas, casi el 84% de la población mundial depende de las plantas

medicinales para su asistencia sanitaria (Beyra, A. et al; 2004).

Se han realizado numerosas investigaciones fitoquímicas con varias familias de plantas medicinales, y se descubrió una gran cantidad de compuestos químicos o mezclas complejas que han determinado varios efectos como irritantes, promotores tumorales, mitogénicos, inductores virales y de reordenamiento cromosómico, como también antioxidantes, antiinflamatorios y antineoplásicos (Camargo, M et al; 1998).

Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart., es una planta conocida en varios países de América. Previos reportes hacen referencia de que ésta ha sido utilizada tupi-guaraní, que producía una fruta como avellana, de buen sabor, de la cual se preparaban comidas de mucho sustento y que fue introducida en la dieta de los expedicionarios de Don Pedro de Mendoza (Patiño, V.M., 2002). Su actividad antihipertensiva ha sido previamente reportada por Ibarrola, M. C. et al, 2004. En cuanto a la semilla no se dispone de una información científica que defina su verdadera utilidad, por lo tanto sería importante realizar estudios que aporten datos referentes a su composición y propiedades fisicoquímicas del aceite (Douglas R.B et al; 2005). Los conocimientos sobre los vegetales, muchas veces son empíricos, ya que en muchos casos faltan estudios químicos, clínicos y epidemiológicos, que confirmen los efectos fisiológicos de las plantas y sus principios activos. Es recomendable por lo tanto valorar la flora mundial y recordar que los fármacos existentes se obtienen de extractos vegetales, o bien han sido sintetizados de éstos a través de ensayos bioquímicos (Caridad, M. et al; 2009).

A. aculeata, es conocida como “mbokaja” o “coco”. Pertenece a la familia Arecaceae, es una palmera vistosa, de 10 a 13 metros (m) de altura y 20 a 30 centímetros (cm) de diámetro, de tronco espinoso, con hojas de color verde claro y glabras por ambos lados, su fruto es una drupa y se distribuye en todo el trópico.

Nuestra investigación trata de buscar plantas comestibles con efecto citotóxico, para lo cual es importante introducir como bioensayo el *Allium* test (Rank, J.; 2003). El *Allium cepa* L. como organismo de prueba, es recomendable por el bajo costo de mantenimiento, tanto en equipamiento e insumos como en cuidados dependientes del personal encargado (Mudry, M. et. al, 2006). Por otro lado, permite trabajar fácilmente con meristemas, y tejido reproductivo para analizar efectos asociados a modificaciones en la dinámica del ciclo celular o de la meiosis, así como detectar alteraciones cromosómicas relacionadas al efecto directo de diferentes agentes sobre el DNA o las proteínas asociadas al mismo. (Mudry et al; 2006).

En este trabajo, se evaluó el potencial citotóxico de las semillas de *A. aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. sobre células meristemáticas de *A. cepa*. Se identificó células con aberraciones cromosómicas y se determinó la calidad de las semillas utilizadas en este estudio a través de técnicas de control de calidad, así como la clasificación taxonómica de la planta.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

Se seleccionaron semillas de *A. aculeata*, provenientes de un mercado del Departamento de Concepción, Paraguay. La muestra testigo se encuentra depositada en el Herbario FACEN.

La muestra fue separada en tres partes, una para el estudio morfológico, otra para la caracterización anatómica y una última para la preparación del extracto acuoso.

Caracterización morfológica

Para determinar el tamaño se midió el largo-ancho de la semilla y la longitud del hilo, con regla milimetrada y están expresadas en milímetro (mm).

Caracterización anatómica

Se hidrató el material en agua destilada por 48 horas; posteriormente se realizaron cortes longitudinales a mano alzada, y luego se aplicó tinción directa con safranina. Para la detección de almidones y aceites-grasas, se tiñó el material con lugol y sudan III respectivamente. Las láminas fueron montadas en gelatina-glicerina y depositadas en el Herbario FACEN. Las Figuras fueron tomadas con cámara digital MOTICAM 352 incorporada al microscopio óptico, editadas con el software Motic Images Plus 2.0 (2006), las mediciones de los cortes histológicos están expresadas en milimicras (μm).

Evaluación Citotóxica

Se procedió al macerado de las semillas, con la que se preparó el extracto crudo acuoso a concentración 2,5%, colocándolo en un frasco de vidrio de 500 ml. La infusión fue preparada cada 24 hs.

Se seleccionaron bulbos de *A. cepa* L., descartando la primera y segunda catáfila del bulbo y realizando un pequeño corte a nivel radical a manera de facilitar el crecimiento de las raíces. Luego se lavaron con abundante agua y se colocaron en un

recipiente con agua, de manera que la parte radical quede en contacto con la misma, oxigenándolas con burbujeo constante utilizando un aireador de acuario (Carballo, J.A. et al; 2006), con aproximadamente una burbuja por segundo y a temperatura de 19-22°C.

Grupo tratado

Una vez que las raíces demostraron un buen desarrollo bajo condiciones controladas se seleccionaron los bulbos y se sometieron a tratamiento con las infusiones preparadas con las semillas de *A. aculeata* a la concentración citada anteriormente. Luego de las 24, 68 y 72 hs., se cortaron las raíces y se colocaron en una solución FARMER, durante una hora y luego lavadas con agua destilada en una caja de Petri.

Los ápices fueron sometidos a hidrólisis con solución de Ácido clorhídrico 5N, por un periodo de 10 minutos; se colorearon con orceína acética y luego fueron colocados sobre una lámina portaobjeto y se realizó el aplastamiento o *Squash* con ayuda de laminillas.

Grupo control

Este mismo procedimiento se llevo a cabo para el grupo control, tratados con agua y oxigenada constantemente. Se cortaron las raíces de aproximadamente 3 cm de longitud, se fijaron con solución FARMER, por una hora en un frasco de plástico. Seguido éste proceso, se llevó a cabo el mismo procedimiento que se ha realizado con el grupo tratado con las infusiones a diferentes tiempo de exposición.

Grupo de prueba

El experimento se repitió a concentración de 0,5%, a 20, 44 y 68 horas, de acuerdo a estudios anteriores sobre cinética celular de *Allium cepa*. Los preparados fueron observados a través de microscopía óptica a un aumento de 100 x, registrándose las fases y anormalidades presentes en el ciclo celular en un total de 1000 células por cada lámina. Se calculó el índice mitótico, índice de fases y el ensayo de *t-student* para determinar el grado de significancia.

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización morfológica

Semillas más o menos redondeadas, tamaño medio 0.6 mm de largo y 1.21mm de ancho, hilo de longitud media 0.18mm, color castaño oscuro, cubierta seminal dura, endospermo blanquecino (Fig. 1).

Tabla 1: Caracteres morfológicos de la semilla de *A. aculeata*

Caracteres	Semillas de <i>A. aculeata</i> N=20
Tamaño l x a (mm)	0,66 x 1,21
Hilo l (mm)	0,18
Forma	±Redondeado
Color	Castaño oscuro

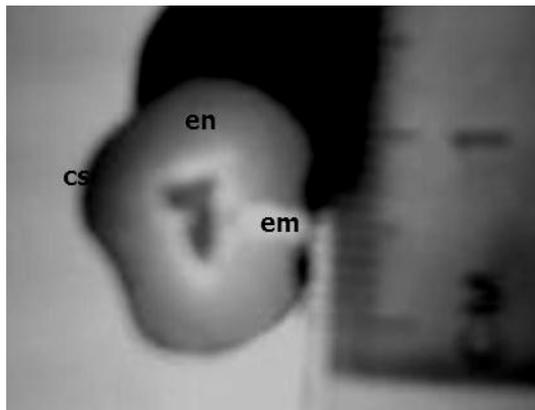


Fig. 1: Corte longitudinal de semilla de *A. aculeata*. Referencias: cs cubierta seminal, en endospermo, em embrión.

Caracterización anatómica

La cubierta seminal de ± 1500 μm de grosor, está compuesta de 8 – 12 capas de células. Se detectó la presencia de grasas y aceites en el endospermo al observarse una coloración naranja-rojiza intensa (Douglas et al; 2005) No se ha detectado la presencia de almidones.

Evaluación Citotóxica

Las células expuestas a concentración de 2,5% a 24 y 48 horas (Tabla 3), demuestran disminución del índice mitótico y aparición de C-metafasas. El análisis de los datos muestran una marcada diferencia en cuanto a la cinética proliferativa, y los índices de fases han determinado disminución de las telofases con relación a las profases y las metafases; observándose células binucleadas (Figura 7) y C-metafasas (Figura 8) tanto a la concentración estudiada de 2,5% como en los ensayos de prueba de 0,5%.

A 72 horas, en el grupo expuesto a concentración 2,5%, el índice mitótico ha aumentado, ya que en *Allium* está registrado

que la división mitótica en células meristemáticas se realiza en ciclos de 20 horas (Rank y Hviid Nielsen, 1993), lo que explicaría la aparición de células en división en los grupos estudiados en ese intervalo; sin embargo en el ensayo de prueba realizado a 20, 44 y 68 horas, se observó una disminución del índice mitótico, comprobándose su actividad antimitótica. El extracto de *A. aculeata*, fue introducido a las horas estandarizadas para el inicio del ciclo de *Allium* (Grant, 1981 - Rank y Hviid Nielsen, 1993), disminuyendo la cinética celular.

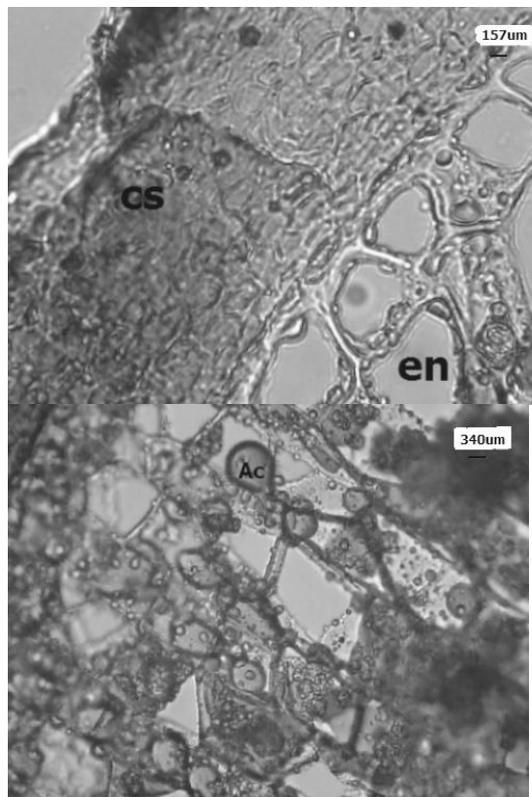


Fig. 2: Corte longitudinal de semilla de *A. aculeata*, A: Tinción con safranina B: Tinción con Sudan III. Referencias: cs cubierta seminal, en endospermo, em embrión, Ac aceites.

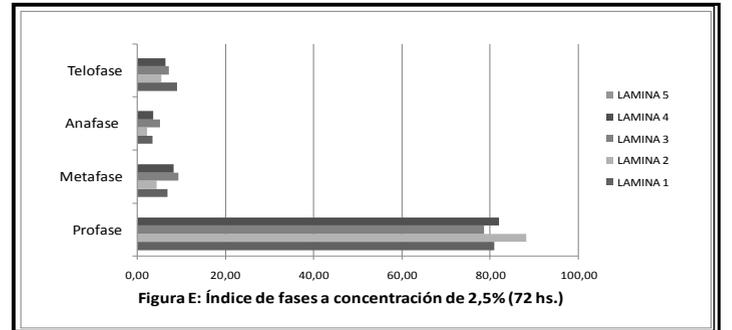
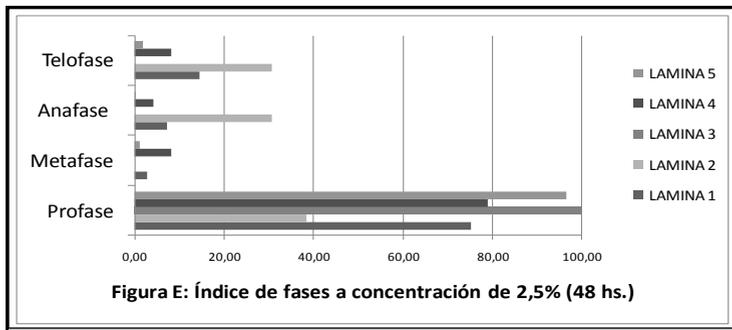
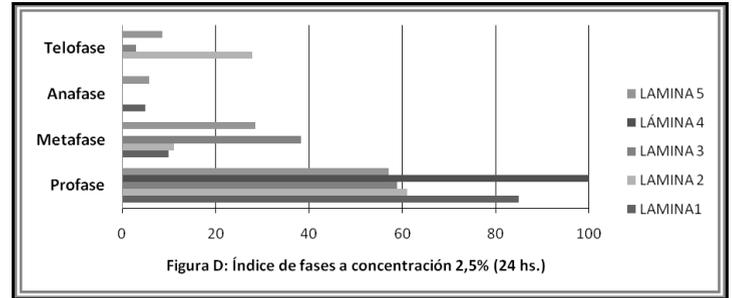
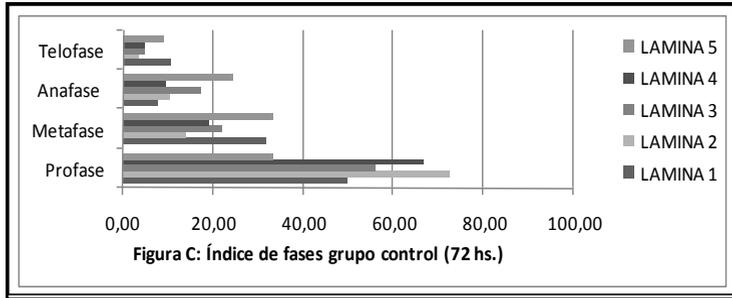
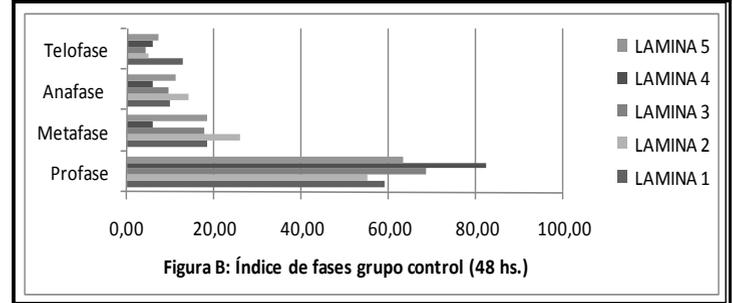
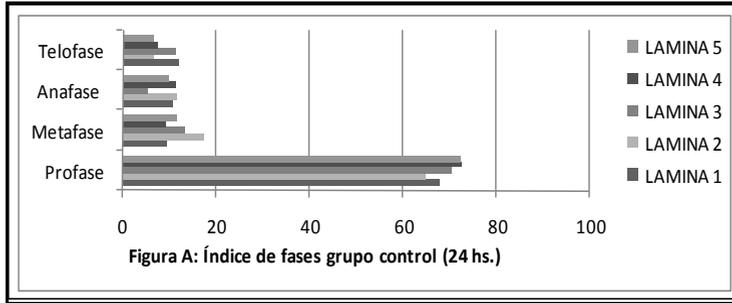


Tabla 2: Número, Índice de fases e Índice mitótico realizados en el Grupo control

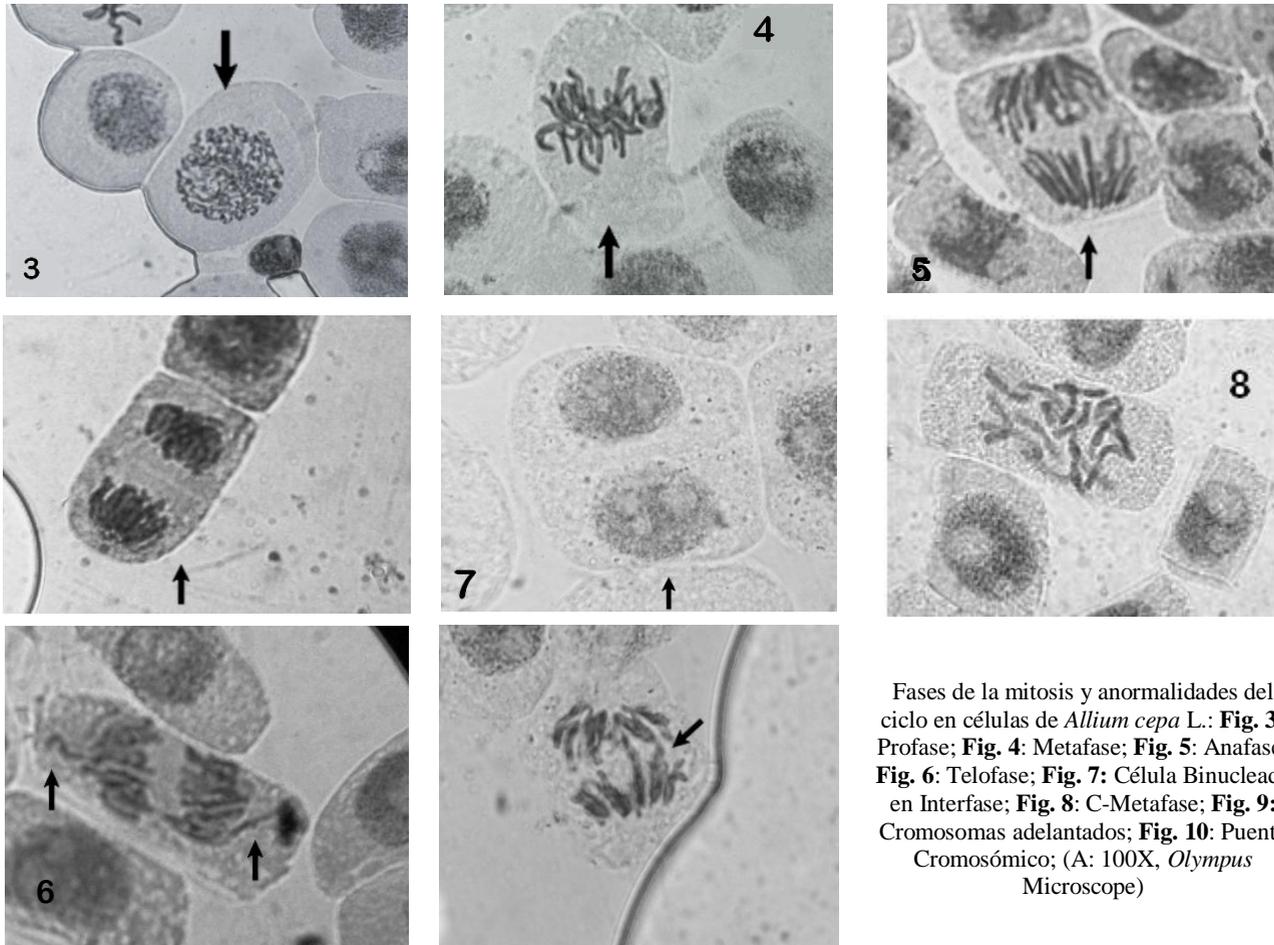
Muestra	Fase	Tiempo de exposición								
		24 horas			48 horas			72 horas		
		Número	Índice de Fases (%)	Índice mitótico	Número	Índice de Fases (%)	Índice mitótico	Número	Índice de Fases (%)	Índice mitótico
1	Interfase	917			954			970		
	Profase	57	67,86%		42	59,15%		19	50,00%	
	Metafase	8	9,52%	8,39%	13	18,31%	6,93%	12	31,58%	3,77%
	Anafase	9	10,71%		7	9,86%		3	7,89%	
	Telofase	10	11,90%		9	12,68%		4	10,53%	
2	Interfase	878			858			979		
	Profase	79	64,75%		79	55,24%		21	72,41%	
	Metafase	21	17,21%	12,20%	37	25,87%	14,29%	4	13,79%	2,88%
	Anafase	14	11,48%		20	13,99%		3	10,34%	
	Telofase	8	6,56%		7	4,90%		1	3,45%	
3	Interfase	886			932			773		
	Profase	80	70,18%		50	68,49%		23	56,10%	
	Metafase	15	13,16%	11,40%	13	17,81%	7,26%	9	21,95%	5,04%
	Anafase	6	5,26%		7	9,59%		7	17,07%	
	Telofase	13	11,4%		3	4,11%		2	4,88%	
4	Interfase	888			950			965		
	Profase	97	72,39%		42	82,35%		28	66,67%	
	Metafase	12	8,96%	13,11%	3	5,88%	5,09%	8	19,05%	4,17%
	Anafase	15	11,19%		3	5,88%		4	9,52%	
	Telofase	10	7,46%		3	5,88%		2	4,76%	
5	Interfase	839			914			976		
	Profase	119	72,12%		62	63,27%		22	33,33%	
	Metafase	19	11,52%	16,43%	18	18,37%	9,68%	22	33,33%	6,33%
	Anafase	16	9,70%		11	11,22%		16	24,24%	
	Telofase	11	6,67%		7	7,14%		6	9,09%	

Tabla 3: Número, Índice de fases e Índice mitótico realizados en grupos tratados con extracto acuoso al 2,5%.

Muestra	Tiempo de exposición									
	24 horas			48 horas			72 horas			
Lámina	Fase	Número	Índice de Fases (%)	Índice mitótico	Número	Índice de Fases (%)	Índice mitótico	Número	Índice de Fases (%)	Índice mitótico
1	Interfase	998			940			912		
	Profase	17	85,00%		52	75,36%		72	80,90%	
	Metafase	2	10,00%	1,96%	2	2,90%	6,84%	6	6,74%	8,89%
	Anafase	1	5,00%		5	7,25%		3	3,37%	
	Telofase	0	0,00%		10	14,49%		8	8,99%	
2	Interfase	982			976			907		
	Profase	11	61,11%		5	38,46%		82	88,17%	
	Metafase	2	11,11%	1,80%	0	0,00%	1,31%	4	4,30%	9,30%
	Anafase	0	0%		4	30,77%		2	2,15%	
	Telofase	5	27,78%		4	30,77%		5	5,38%	
3	Interfase	966			990			906		
	Profase	20	58,82%		13	100,00%		77	78,57%	
	Metafase	13	38,24%	3,40%	0	0,00%	1,30%	9	9,18%	9,76%
	Anafase	0	0,00%		0	0,00%		5	5,10%	
	Telofase	1	2,94%		0	0,00%		7	7,14%	
4	Interfase	954			992			889		
	Profase	10	100,00%		19	79,17%		91	81,98%	
	Metafase	0	0,00%	1,04%	2	8,33%	2,36%	9	8,11%	11,10%
	Anafase	0	0,00%		1	4,17%		4	3,60%	
	Telofase	0	0,00%		2	8,33%		7	6,31%	
5	Interfase	966			335			796		
	Profase	20	57,14%		796	96,60%		10	1,21%	
	Metafase	10	28,57%	3,50%	10	1,21%	71,10%	2	0,24%	
	Anafase	2	5,71%		2	0,24%		16	1,94%	
	Telofase	3	8,57%		16	1,94%				

Tabla 4: Número, Índice de fases e Índice mitótico realizados en grupos tratados con extracto acuoso al 0,5% (Ensayo de prueba)

Muestra	Lámina	Fase	Tiempo de exposición							
			20 horas			44 horas			68 horas	
			Número	Índice de Fases (%)	Índice mitótico	Número	Índice de Fases	Índice mitótico	Número	Índice de Fases
1	Interfase	925			930			967		
	Profase	52	66,67%		45	61,64		16	38,23	
	Metafase	5	6,41%	7,77%	11	15,06	7,27%	7	20,05	3,39%
	Anafase	15	19,23%		13	17,8		12	35,29	
	Telofase	6	7,69%		4	5,47		2	5,88	
2	Interfase	910			898			965		
	Profase	69	76,67%		68	66,6		16	43,24	
	Metafase	6	6,67%	9,00%	18	17,64	10,17%	4	10,81	3,69%
	Anafase	4	4,44%		14	13,72		13	35,14	
	Telofase	11	12,22%		2	1,96		4	10,81	
3	Interfase	939			912			972		
	Profase	48	53,93%		48	53,33		16	43,24%	
	Metafase	8	8,99%	7,03%	18	20	8,98%	5	13,51%	3,66%
	Anafase	6	6,74%		15	16,6		12	32,43%	
	Telofase	9	10,11%		9	10		4	10,81%	
4	Interfase	920			926			951		
	Profase	40	44,44%		62	73,81%		21	42,00%	
	Metafase	17	19,10%	8,09%	15	17,86%	8,32	11	22,00%	4,99%
	Anafase	17	19,10%		3	3,57%		16	32,00%	
	Telofase	7	7,87%		4	4,76%		2	4,00%	
5	Interfase	959			0	0		954		
	Profase	24	58,54%		0	0		23	48,94%	
	Metafase	9	21,95%	4,10%	0	0	0,00%	11	23,40%	4,69%
	Anafase	7	17,07%		0	0		10	21,28%	
	Telofase	1	2,44%		0	0		3	6,38%	



Fases de la mitosis y anomalías del ciclo en células de *Allium cepa* L.: **Fig. 3:** Profase; **Fig. 4:** Metafase; **Fig. 5:** Anafase; **Fig. 6:** Telofase; **Fig. 7:** Célula Binucleada en Interfase; **Fig. 8:** C-Metafase; **Fig. 9:** Cromosomas adelantados; **Fig. 10:** Puente Cromosómico; (A: 100X, Olympus Microscope)

Además de las anomalías ya citadas, también se observaron cromosomas adelantados (Figura 9), cromosomas rezagados y puentes cromosómicos (Figura 10), lo que podría indicar daño genotóxico, además del daño citotóxico. Posteriores estudios son necesarios para confirmar estas hipótesis.

CONCLUSIÓN

Debido a los resultados obtenidos en el estudio, se observó una marcada disminución del IM de las células expuestas a los tratamientos en comparación con los controles. Se registró un alto índice de C-metafases, células binucleadas, puentes cromosómicos, cromosomas adelantados y rezagados. A mínimas concentraciones (0,5%) ya se pudo observar actividad C-mitótica, alteraciones en el ciclo celular y de las estructuras de los cromosomas, produciéndose un aumento de estas manifestaciones citogenéticas en concentraciones medias (2,5%), y en concentraciones altas (10%), existe una evidente disminución en cuanto a la proliferación celular, produciéndose una inhibición total del crecimiento de las raíces (Bagatini, M.D et al; 2009). Esto resalta la importancia de realizar estudios citotóxicos, de manera que la población acceda a un producto de origen natural con mayor seguridad. Sería importante utilizar otros modelos biológicos en esta línea de investigación.

AGRADECIMIENTOS

Al Lic Nicolás Guefos Kapsalis. MAE Decano de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UNA y a los directivos de la Facultad.

Al MSc. Danilo Fernandez Ríos.

A la estudiante Nidia Benítez Candia.

A los estudiantes de iniciación científica, Natalia Zaracho, Cristhel Conteirol, Daisy Alarcón, Cathia Coronel, Silvia Fernandez, Mónica Benítez, Julieta Sánchez, Sara Núñez, y Natalia Bobadilla.

BIBLIOGRAFIA

- Bagatini, M. D. et al. 2009. Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*. Brazilian Journal of Pharmacognosy 19(2B): 632-636, Abr./Jun.
- Beyra, A. 2004. Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). Anales del Jardín Botánico de Madrid 61 (2): 185. 204.
- Camargo; M. 1998. Efectos sobre el ciclo celular de extractos de *Euphorbia aphylla*. Actual Biol. 20 (69):121-130.
- Cano., M. 2002. Alteraciones De Los Índices De Fases Y Mitótico En Meristemos De *Allium Cepa*, Inducidas Por Extractos De *Lepidium meyenii* Walp "Maca" Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Ricardo Palma.
- Carballo, J.A. et al; 2006. The G2 checkpoint activated by DNA damage does not prevent genome instability in plant cells. Biol Res 39: 331-340
- Caridad, M. et al. 2009. Metabolitos secundarios en los extremos secos de *Passiflora incarnata* L., *Matricaria recutita* L. y *Morinda citrifolia* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 14 (2)

- D'Ambrogio, A. 1986. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Buenos Aires, Editorial Hemisferio Sur. 84p.
- Douglas; R.B. 2005. Evaluación físico – química de la semilla y el aceite de corozo (*Acrocomia aculeata* Jarq.) Grasas y aceites Vol. 56. Fasc. 4.
- Fernández, V.; Sales, L.; Gómez, A.; Cabañas, F.; Alfonso, J. 2009. Evaluación citotóxica de *Psidium guajava* L. utilizada como bioensayo en *Allium* test. *Paraguay, Steviana* Vol. 1: 51-58.
- López-Sáez, JF & Fernández E. 1965. Mitotic partial index and phase indices. *Experientia* 21: 591-592.
- Machado-Santelli GM. 2000. Cell cycle progression in normal and tumoral cell cultures. *BIOCELL*: 25 abst. S1
- Quires C, Epperson A., Hu J., Holle M.: Physiological studies and determination of chromosome number in Maca, *Lepidium meyenii*, *Economic Botany* 1996, 50: 216-223.
- Monroy Vázquez, M. E. et al. 2009. Estudio Biodirigido de un extracto alcohólico de frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. México, *Agrociencia* Vol. 43, 8.
- Moron Rodríguez, F.J.; Moron Pineda, D. 2004. Mito y realidad de *Morinda citrifolia* L. (noni). *Rev Cubana Plant Med* v.9 n.3 Ciudad de la Habana sep.-dic.
- Motic China Group. 2006. Motic Images Plus versión 2.0. Software de computadora para microscopia digital.
- Mudry, M.D; Carvallo, M.A. 2006. Genética Toxicológica. 1º Edición. Editorial de los Cuatro Vientos.
- Oyedare, B.M. Bakare, A. Akinboro, A. 2009. Genotoxicity assessment of water extracts of *Ocimum gratissimum*, *Morinda lucida* and *Citrus medica* using the *Allium cepa* assay. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8 (2), 97 – 103.
- Patiño, V. M. 2002. Historia y Dispersión de los frutales nativos del Geotrópico. Cali, Colombia. CIAT N° 326. 655 p.
- Quires, C.; Epperson, A.; Hu, J.; Holle, M. 1996. Physiological studies and determination of chromosome number in Maca, *Lepidium meyenii*. *Economic Botany* 50: 216-223.
- Rank, J.; Hviid Nielsen, M. 1993. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. - *Hereditas* 118: 49-53. Lund, Sweden. ISSN 0018-0661.
- Rodríguez Leyes, E.A. et al. 2010. Contenidos de aceite y de los ácidos láurico y mirístico en frutos maduros de *Roystonea regia* colectados durante dos años. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2010; 15(2)42-50
- Zavala, D. et al. 2006. Efecto Citotóxico de *Physalis peruviana* (capulí). *Anales de la Facultad de Medicina*. Vol. 67, 004: 283-289.

Plantas utilizadas como barbasco por algunas comunidades indígenas del Paraguay

Marcelo Dujak M.¹, Pamela Marchi¹

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

E mail del autor: dujakm@hotmail.com - pamelamarchi@hotmail.com

Plantas utilizadas como barbasco por algunas comunidades indígenas del Paraguay.

Varias etnias indígenas del Paraguay, que habitan a orillas de grandes ríos y sus afluentes, son ictiófagas hasta hoy día. Una de las técnicas de pesca consiste en el uso de sustancias tóxicas de diferentes plantas para embarascar peces. Probablemente el descubrimiento de las plantas ictiotóxicas se debió a las prácticas de higienización y a la realización de rituales a orillas de ríos o arroyos. En el presente trabajo se compilaron datos existentes sobre plantas con propiedades ictiotóxicas utilizadas por algunas comunidades indígenas del Paraguay. Asimismo se presenta la información sistematizada asignándole nombres científicos a los vernáculos recabados, mencionando además el porte de la planta, órgano utilizado y fuente de la información. La compilación se realizó, mediante pesquisa bibliográfica y entrevista semiestructurada. Se hallaron 25 especies agrupadas en seis familias botánicas, donde 14 especies corresponden a Sapindaceae, seis a Fabaceae, dos a Myrsinaceae y una a Buddlejaceae, Rutaceae y Polygonaceae respectivamente. Este es el primer trabajo que reúne la información disponible sobre barbascos utilizados por comunidades indígenas en Paraguay. Además se menciona una especie cuyo uso como barbasco no fue citado antes en el país.

Palabras clave: Plantas ictiotóxicas - comunidades indígenas - Paraguay

Ichthyotoxic plants used by some indigenous communities from Paraguay. Several indigenous tribes in Paraguay that inhabit on the major river banks and their tributaries are fish-eating until today. One of the fishing techniques is the use of toxic substances from plants. Probably the ichthyotoxic plants discovery was due to hygiene practices and performing rituals on the river banks or streams. In the present study were compiled existing data of plants with ichthyotoxic properties which are used by some indigenous communities in Paraguay were compiled. Also presents systematized information is presented, assigning scientific names to common names collected, mentioning as well the plant's size, organ used and source of the information. The compilation was made by a literature review and semistructured interviews. We found 25 species grouped into six botanical families, where 14 species correspond to Sapindaceae, six to Fabaceae, two to Myrsinaceae, and Buddlejaceae, Polygonaceae and Rutaceae one respectively. This is the first work that brings together available information on mullein used by indigenous communities in Paraguay. Also one species whose use as mullein was not cited before in Paraguay is mentioned.

Key words: Ichthyotoxic plants - indigenous communities - Paraguay

INTRODUCCIÓN

Los barbascos o también llamadas plantas ictiotóxicas, corresponden a conjuntos de plantas de diversas familias botánicas, de hábitos arbóreos, arbustivos,

hierbas, lianas, etc., que contienen sustancias dentro de sus raíces, corteza, hojas, tallos, frutos, que tienen efectos paralizantes o entumecientes sobre los peces y los hacen

surgir a la superficie, donde son colectados por los pescadores (Rondón, 2002).

El uso de plantas embarbascantes o también llamadas ictiotóxicas es una práctica de varios pueblos indígenas de Sudamérica. Los Guajíbos de los llanos de Colombia, por citar un ejemplo, utilizaban plantas de la familia Sapindaceae. La pesca con estas plantas era una actividad cooperativa entre hombres y mujeres. El líder de la comunidad es quien dirige la pesca, pero solo éste y otros dos hombres más tenían contacto con las plantas (Susnik, 1990).

Rondón (2002) comenta que el uso de esta técnica de pesca tradicional y antigua, denominada embarbascar, es utilizado por los nativos de Venezuela, de los Llanos, Guayana y Amazonas.

Los Umotinas que habitaban entre el Río Alto Paraguay y el Río Bugres (Brasil) también practicaban la pesca con plantas tóxicas. Utilizaban varias lianas especialmente las del “timbo”, “en donde los hombres trituraban la liana hasta que se suelte la cáscara y se deshaga en fibras; se desprende una espuma lechosa una vez puesta y agitada en el agua. Luego de un tiempo los peces huyen realizando movimientos rápidos y surgen a la superficie en busca de oxígeno. Las mujeres recogen los peces moribundos con pequeñas redes” (Susnik, 1990).

En Bolivia existe también registros de los Guarayu-Guaraníes, inmigrantes de la selva del Oriente Boliviano, que empleaban el barbasco *Lonchocarpus sp* (Susnik, op. cit.).

Los antiguos Guaraníes que habitaban a la orilla de grandes ríos y sus afluentes son ictiófagos hasta hoy día. Una de las técnicas de pesca se refiere al uso de sustancias tóxicas de diferentes lianas (*Ysypo timbo* e *Ysypo tingy*) (Susnik, op. cit.).

La pesca ha sido desde siempre una de las actividades de subsistencia de estos indígenas, y la practican de diferentes maneras, tales como: utilizando liñadas, lanzas de tacuara, arco y flecha (González Torres, 1987), y la más resaltante para éste trabajo, la utilización de plantas con propiedades ictiotóxicas.

El uso de plantas para envenenar peces puede variar de acuerdo a la localidad, pero básicamente consiste en arrojar material macerado (corteza, hojas, frutos) en cuerpos de agua como riachos o lagunas poco profundas, realizando movimientos enérgicos, sumergiendo y quitando a la superficie varias veces la planta, y “al cabo de cierto tiempo los peces quedan aturcidos y comienzan a flotar en la superficie. Los peces pueden ser fácilmente colectados manualmente o cazados con arco y flecha” (Van Andel, 2000).

Las plantas con propiedades ictiotóxicas se agrupan bajo el nombre de *tingy*, éste vocablo proviene del guaraní (Gatti, 1985; González Torres, 1987). Los Paí – Tavyterá se referían a éste método de pesca como *otingyja* o “envenenar agua con (timbo), *Enterolobium contortisiliquum*, e (*yvyrare’y*) *Piptadenia paraguayensis*” (Meliá, 1976).

Los Mbya-Guaraní y los Guayakíes usaban el “ysypo tingy”, una liana abundante en los bosques ribereños. Machacaban la madera y con la pasta resultante iban a la costa del río o arroyo, la arrojaban al agua y la agitaban enérgicamente hasta que comience a formarse espuma flotante en la superficie. Los peces al poco tiempo quedaban muertos (Ambrosetti, 1895).

Otras especies como el “kurundi’y” *Trema micrantha*, el “kurupika’y” *Sapium haematospermum* y el “kurupa’y”

Piptadenia sp., se encuentran incluidas para los guaraníes en la “familia de plantas mágicas o misteriosas”, ya que las utilizaban como parte de sus rituales espirituales, donde el “ava paje” (medico brujo) seleccionaba ciertas especies para entrar en trance y comunicarse con los espíritus, acción que se denomina “kurupa” (Cadogan, 1972). Presumiblemente junto con las actividades de higienización, ambas relacionadas, sean el origen del uso de las plantas en la pesca como ictiotóxicas.

En Paraguay son escasos los datos y documentaciones sobre el uso de plantas ictiotóxicas. Susnik (1982) sólo menciona éstas costumbres en poblaciones indígenas ribereñas de la región oriental. Además la mayor parte de la información registrada se encuentra enfocada desde el punto antropológico, encontrándose incógnitas sobre los nombres científicos de las especies vegetales. Las especies citadas en las bibliografías presentan en su mayoría nombres vulgares debiéndose por lo tanto validar el nombre científico al que posiblemente corresponda.

El presente trabajo tiene por objetivo realizar un reporte preliminar de especies vegetales con propiedades embarbascantes o ictiotóxicas utilizadas en algunas comunidades indígenas del Paraguay, por medio de revisión bibliográfica y entrevistas, con el fin de corroborar la vigencia de este método de pesca, sistematizando la información, asignándole nombres científicos a los vernáculos recabados, anotando el porte de la planta, órgano utilizado y fuente de la información. El enfoque del trabajo es el de realizar un registro científico etnobotánico sobre especies con propiedades embarbascantes o llamadas también ictiotóxicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo comprendió las siguientes fases:

A-Revisión bibliográfica

Se han realizado revisiones bibliográficas en el Museo Etnográfico Andrés Barbero, Centro de Estudios Antropológicos de la Universidad Católica (CEADUC.), Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN), y en la biblioteca del Herbario de la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ).

De este modo se obtuvo un listado preliminar, principalmente de literatura antropológica, de plantas ictiotóxicas utilizadas por varias comunidades indígenas del Paraguay. Los datos obtenidos fueron volcados en una tabla (Tabla 1), registrándose: nombre científico y vernáculo, hábito, parte utilizada y fuente de la información. En la citas bibliográficas utilizadas, mayormente se describen a las especies ictiotóxicas por su nombre vernáculo y por otras características anatómicas de la planta. Para validar u homologar a que género o especie se refiere se recurrió a la enciclopedia de Gatti (1985). Los correspondientes nombres científicos actuales fueron verificados por medio de la base de datos del Catálogo del Cono Sur del Instituto Darwinion “*on line*” (Zuloaga y Morrone, 2004).

B-Evaluación Etnobotánica en dos comunidades Mbya Guaraní, Parque Nacional San Rafael en Itapúa – Paraguay.

Con el objetivo de constatar la vigencia de esta práctica se llevaron a cabo dos viajes a comunidades de la parcialidad indígena

Mbya Guaraní (comunidades Arroyo Moroti y Sauco Taguató) en el Parque Nacional San Rafael (26°30'33.37"S, 55°41'27.13"O). (Fig. 1).

Para la obtención de datos se utilizó la entrevista semiestructurada (Thomas *et al*, 2007). Los informantes fueron los líderes de sus respectivas comunidades, otros miembros de las mismas y guardaparques locales, quienes facilitaron la entrevista. La entrevista se llevó a cabo en el patio de la casa familiar y en caminatas en el bosque (*in situ*), registrando la información en planillas y en una grabadora digital.

C-Trabajos de colecta de especímenes

Para obtener especímenes testigo, se colectaron muestras botánicas en ambas comunidades, las mismas fueron identificadas, procesadas y depositadas en el Herbario de FACEN.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A-Revisión bibliográfica

En la Tabla 1, se presentan las especies vegetales utilizadas como barbasco por algunas comunidades indígenas del Paraguay.

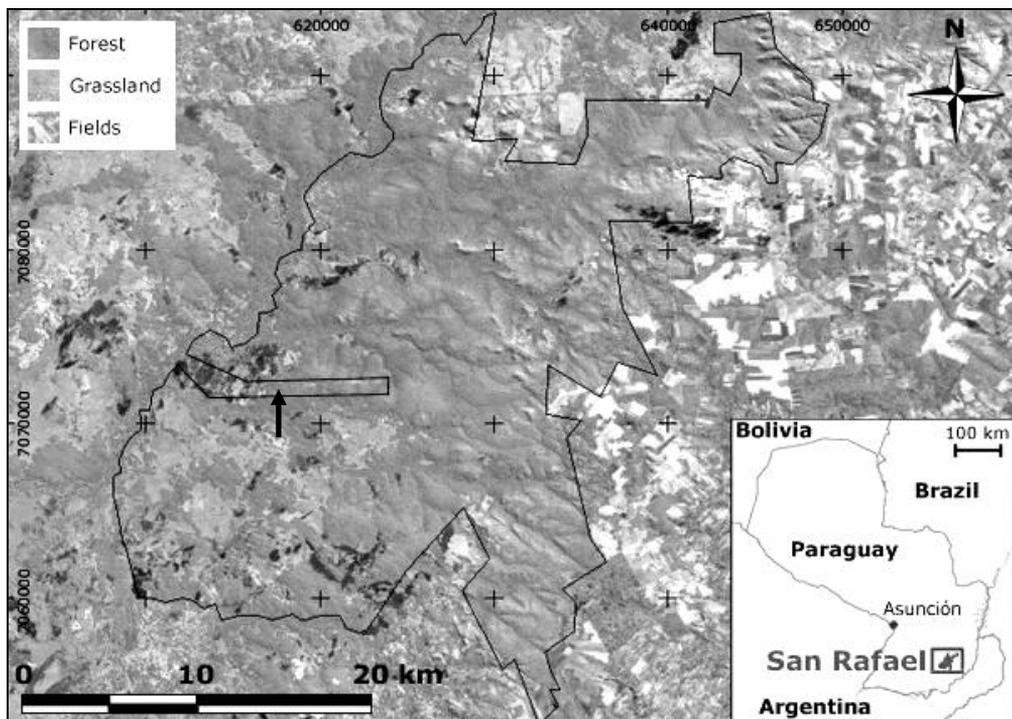


Figura 1. Área de Estudio (↑), imagen satelital de la Reserva San Rafael, Departamento. de Itapúa.
Fuente: <http://procosara.org/es/san-rafael>

Tabla 1. Lista de plantas registradas como ictiotóxicas, por comunidades indígenas del Paraguay.

Nombre científico y material de referencia de especímenes colectados	Nombre vernáculo	Hábito	Parte utilizada	Fuente
Buddlejaceae				
<i>Buddleja stachyoides</i> Cham. & Schlttdl [Citado como <i>Buddleja brasiliensis</i> Jacq. ex Spreng.] Dujak, M & Marchi, P 01	<i>Yagua peñí morotí</i>	Arbusto o subarbusto	Desconocida, probablemente la planta completa	1, 8
Fabaceae				
<i>Tephrosia adunca</i> Benth.	<i>Ayare</i>	Hierba perenne	Raíz, probablemente la planta completa	12
<i>Tephrosia cinerea</i> (L.) Pers.	<i>Ayare / añil bravo</i>	Hierba perenne	Raíz, probablemente la planta completa	12
<i>Tephrosia guaranítica</i> Chodat & Hassl.	<i>Ayare</i>	Hierba perenne	Raíz, probablemente la planta completa	12
<i>Tephrosia hassleri</i> Chodat.	<i>Ayare</i>	Hierba perenne	Raíz, probablemente la planta completa	12
<i>Tephrosia marginata</i> Hassl.	<i>Ayare</i>	Hierba perenne	Raíz, probablemente la planta completa	12
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong Dujak, M & Marchi, P 02	<i>Timbo</i>	Árbol	Corteza y fruto	7, 8, 9
Myrsinaceae				
<i>Myrsine parvula</i> (Mez) Otegui [Citado como <i>Rapanea lorentziana</i> Mez]	<i>Kandelon guasu</i>	Árbol	Corteza	2, 3
<i>Myrsine umbellata</i> Mart. [Citado como <i>Rapanea umbellata</i> (Mart.) Mez]Dujak, M & Marchi, P 03	<i>Kandelon guasu/ Kandelon pytâ</i>	Árbol	Corteza	2, 3 10,13

Rutaceae					
<i>Pilocarpus pennatifolius</i> Lem. Dujak, M & Marchi, P 04	<i>Yvyratái</i>	Árbol	Tallo. Corteza		4
Sapindaceae					
<i>Paullinia elegans</i> Cambess.	<i>Ysypo morotí</i>	Liana	Tallo. Corteza		1, 8
<i>P. pinnata</i> L.	<i>Ysypo morotí</i>	Liana	Tallo. Corteza		1, 7, 8
<i>Sapindus saponaria</i> L.	<i>Jeky ty</i>	Árbol	Semillas		2, 8,11
<i>Serjania caracasana</i> (Jacq.) Willd.	<i>Ysypo timbo</i>	Liana	Tallo. Corteza		1, 8,11
<i>S. glabrata</i> Kunth	<i>Ysypo timbo</i>	Liana	Tallo. Corteza		1, 8,11
<i>S. hebecarpa</i> Benth.	<i>Ysypo timbo</i>	Liana	Tallo. Corteza		1, 8,11
<i>S. marginata</i> Casar.	<i>Ysypo timbo</i>	Liana	Tallo. Corteza		1, 8,11
<i>S. meridionalis</i> Cambess.	<i>Ysypo timbo</i>	Liana	Tallo. Corteza		1, 8,11
<i>S. perulaceae</i> Radlk.	<i>Ysypo timbo</i>	Liana	Tallo. Corteza		1, 8,11
<i>S. laruotteana</i> Cambess.	<i>Ysypo timbo</i>	Liana	Tallo. Corteza		1, 8,11
<i>Talisia esculenta</i> (Cambess.) Radlk. Dujak, M & Marchi, P 05	<i>Karaja bola</i>	Árbol	Planta entera		5,11
<i>Thinouia compressa</i> Radlk. Dujak, M & Marchi, P 06	<i>Ysypo ka`aguy</i>	Liana	Tallo. Corteza		10
<i>Thinouia paraguayensis</i> (Britton) Radlk. Dujak, M & Marchi, P 07	<i>Ysypo ñanandy</i>	Liana	Tallo. Corteza		6,10
<i>Cardiospermum grandifolium</i> Sw.	<i>Ysypo</i>	Liana	Tallo. Corteza		6
Polygonaceae					
<i>Polygonum punctatum</i> Elliott [Citado como <i>Polygonum acre</i> Kunth, hom. Illeg.]	<i>Ka`atái</i>	Hierba	Desconocida, probablemente la planta completa		6, 8

Referencias :

¹Gatti, C. 1985, ² Lopez et al. 1987, ³ Marin et al. 1998, ⁴ Cadogan, L. 1972, ⁵ Gonzalez Torres, D. M. 1987, ⁶ Steward, J. 1949, ⁷ Ambrosetti, J. B. 1895, ⁸ Hoehne, F. C, 1978, ⁹ Susnik, B. 1982, ¹⁰ entrevista, ¹¹Gonzalez Torres, D. M. 2005, ¹² Bertoni, M. 1927. ¹³ Ortega Torres et. al, 1989.

B- Entrevista

Los informantes comentaron que hasta hoy día utilizan ciertas especies vegetales en la pesca. Mencionaron dos tipos de “kandelon”, cuyos nombres científicos correspondan a *Myrsine parvula* y *Myrsine umbellata*, y varios tipos de “ysypo” *Thinouia* spp.

En el bosque se colectaron 3 especies de plantas, dos de “ysypo”, que corresponden a las lianas *Thinouia paraguayensis* y *Thinouia compressa* (Fig. 2 y 3). El informante expresó que a *Thinouia compressa*, además de ser utilizado el tallo completo como barbasco, se le atribuye la propiedad medicinal de vermífuga. Para este uso sólo la corteza externa es extraída y utilizada en el “tereré” (infusión fría de yerba mate muy popular en el Paraguay).

La tercera especie, corresponde al “kandelon”, el cual también fue colectado en el bosque, en zona húmeda y de vegetación densa. Este ejemplar fue determinado como *Myrsine umbellata* (Anexo, Fig. 6 A). El órgano utilizado para la pesca es la corteza, que debe ser extraída en grandes cantidades. En el proceso de extracción del material se manifestó el cuidado que debe tenerse para evitar que parte de la corteza ingrese al ojo, pudiendo producir una irritación importante. Otro de los actores indígenas atribuyó a esta planta propiedades tintóreas.

Con respecto a la cantidad utilizada, sea corteza u hoja, es proporcional a la cantidad de agua, si es un arroyo o remanso. Cuando el cuerpo de agua es mayor, así también la cantidad de plantas aumenta.

El proceso de preparación de la pasta embarbascante comienza con la selección de la especie con tal propiedad; extrayendo la corteza de la planta en el caso que sea un árbol *Myrsine* sp., o usando por completo el

tallo de la liana (*ysypo*). Con ayuda de un garrote se macera hasta que resulte una pasta, seguidamente es sumergida al agua. El informante afirmó el efecto piscicida del preparado.

Las especies más comúnmente capturadas son *Pimelodus* sp. (*mandi'i*), *Crenicichla* sp. (*pirakygua*), *Prochilodus* sp. (*karimbata*) y *Hoplias malabaricus* (*tare'yi*). La época estival con bajas precipitaciones es la más favorable para esta forma de pesca. Probablemente a altas temperaturas se facilita la disolución integral del preparado en el agua y por ende el efecto ictiotóxico es óptimo. Otro factor importante en la efectividad de la pesca es la velocidad de la corriente de agua, siendo propicio un caudal bajo y de poca velocidad, pudiendo existir mayor tiempo de contacto de los peces con el veneno. La práctica se realiza en una zona puntual del cuerpo de agua elegido y pretende actuar en una cierta cantidad de peces, por lo cual es fundamental que la corriente no expanda el preparado embarbascante en una extensión mayor a la calculada por los actores. Señalaron que realizan un conteo de las personas que consumirán el pescado a fin de extraer la cantidad justa, evitando el desperdicio del recurso, aplicando así el uso sostenible.

La pesca utilizando este método es alternado con otros, debido a que los peces reconocen ciertas sustancias de éstas plantas por lo que huyen del sitio, aseguró uno de los informantes.

Ésta forma de pesca no solo tiene como fin la subsistencia, sino también constituye una actividad social. Usando menos cantidad del preparado habitual de las plantas, el efecto solo aturde o entorpece a los peces (*omongau* = emborrachar en el idioma guaraní). De esta forma pueden llevar a cabo el entrenamiento del uso de arco y flecha.

Otra técnica de pesca corresponde al uso de trampas hechas de tacuarillas que presentan forma de embudo, donde los peces quedan atrapados en el extremo más angosto (cuello de botella), pero éste método lo utilizan cuando el caudal es mayor. En invierno los peces bajan desde el arroyo Morotí y llegan al río Tebicuary. En verano los peces suben al arroyo a desovar y a su regreso quedan atrapados en las trampas de tacuara. Con respecto al efecto del “Kandelon” mencionaron que no es muy frecuente su uso a pesar de su efectividad, ya que si no es controlada la cantidad vertida en el agua puede perjudicar a otros animales.

C- Especimen testigo

En entrevistas realizadas durante caminatas en el bosque dentro del territorio de las comunidades, según la metodología *in situ* propuesta por Thomas *et al.* (2007), se realizaron colectas de algunas de las especies que ellos indicaban (Fig. 2, 3 y 4) y que fueron luego determinadas por los autores en gabinete.

Las especies de lianas *T. paraguayensis* y *T. compressa* colectadas fueron halladas al borde del bosque próximo a la comunidad. El “kandelon”, *Myrsine umbellata*, fue colectado en una zona más distante de la comunidad.



Fig. 2. Tallo y hoja de *Thinouia compressa* Radlk.



Fig. 3. Tallo y hoja de *Thinouia paraguayensis* (Britton) Radlk.



Fig. 4. Corteza y hoja de *Kandelon*. *Myrsine umbellata* Mart.

El listado compilado corresponde a 25 especies agrupadas en seis familias, donde 14 pertenecen a las Sapindaceae, seis a Fabaceae, dos a Myrsinaceae y una a las familias Buddlejaceae, Rutaceae y Polygonaceae respectivamente (Fig.5). La notable diferencia entre el número de especies que forman parte del grupo de las Sapindaceae y las demás familias, puede deberse a que a casi todas ellas se les

atribuían usos higiénicos (jabón), siendo este un hábito común e importante socialmente entre individuos de las comunidades guaraníes. Las madres bañaban a sus hijos a la costa de ríos y arroyos con ciertas plantas utilizando la corteza o el fruto, frotándolo por el cuerpo, y al contacto con el agua formaba espuma, observando a su alrededor algunos peces flotando en la superficie (Keller, H. 2008).

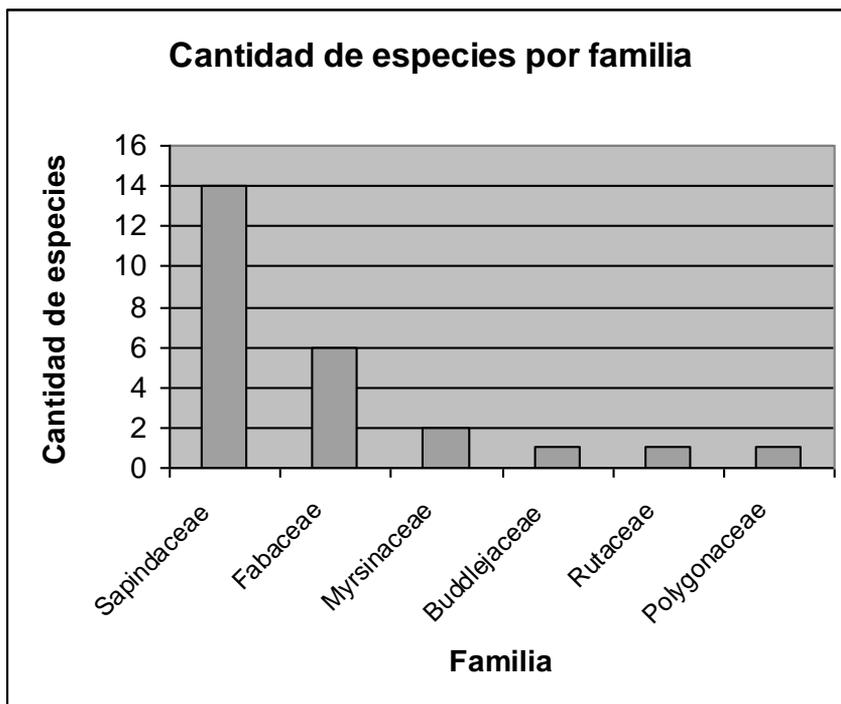


Fig. 5. Gráfico de cantidad de especies por familias

Con respecto a la evaluación etnobotánica a dos comunidades Mbya-Guaraní se corroboraron dos especies encontradas en la lista de la tabla 1, las cuales son: *Thinouia paraguayensis* (ysypo), *Myrsine umbellata* (Kandelon), y una especie no registrada como barbasco correspondiente a *Thinouia compressa* (ysypo).

Las Sapindaceae también presentan numerosos usos medicinales (González Torres, 1987), los entrevistados señalaron la utilización de éstas como antiparasitario y antitusivo, además de mencionar el uso de *Pilocarpus pennatifolius* (Anexo, Fig. 6B) para tratamientos del dolor de dientes, información afirmada por González Torres (op. cit.).

Muchas de las plantas cuya utilización como barbasco fue compilada bibliográficamente, también tienen otros usos. Pin, *et al.* (2009) y González Torres (1987) citan al “ka’a táí” en la utilización en problemas cardiovasculares, gastrointestinales y como antihelmíntico. González Torres, (op. cit.) cita el uso del timbó como astringente, el del “ayare” como purgante, y la corteza del “kandelon” para reumas y tratamientos de fracturas.

Hoehne (1978), menciona a los géneros *Paullinia* y *Serjania* (Sapindaceae) como excelentes piscicidas. El fruto de *Enterolobium contortisiliquum* (Anexo, Fig. 6C) presenta saponina (Hoehne, op. cit.). *Pilocarpus pennatifolius* (yvyratái), otra especie listada en los resultados, exhibe un alcaloide llamado pilocarpina. “Roig y Mesa (1988) indican para Cuba que las especies de *Tephrosia* contienen en sus raíces cierta cantidad de rotenona, específicamente *T. catártica*” (Rondón, 2002).

Todas las especies vegetales que los indígenas utilizaban para la pesca son en su

mayoría de bosques ribereños de la Región Oriental del Paraguay. De tal manera que para las comunidades del Chaco seco no se registran datos sobre esta técnica de pesca. Scarpa (2007) realizó un estudio en la comunidad Chorote del Chaco semiárido (Argentina) que geográficamente limita con la región occidental del Paraguay, separado por el río Pilcomayo. En este trabajo se menciona una amplia lista de especies vegetales relacionadas a la pesca señalando el no uso de especies vegetales a modo de ictiotóxicas o embarbascantes, no por el hecho de desconocer especies tóxicas, haciendo referencia a *Sapindus saponaria* y *Phyllanthus niruri*, ambas muy conocidas en Sudamérica como piscicidas, sino por no pertenecer a su acervo cultural o costumbres ancestrales. Los órganos utilizados para la pesca son en su mayoría los tallos completos (en caso de árboles la corteza), además de las hojas, raíces y en pocos casos son utilizados los frutos. Los autores Marcano y Hasegawa, (1991) estudiaron como las saponinas presente en muchas plantas en diferentes grados, tienen la propiedad de afectar la permeabilidad de las membranas celulares, causando la descomposición de eritrocitos (glóbulos rojos), lo cual genera insuficiencia de oxígeno en las agallas de los peces, por tanto causa la muerte de los mismos, esto se menciona en el trabajo de (Rondón, 2002).

CONCLUSIÓN

Existe una gran cantidad de especies vegetales tóxicas pero no todas son utilizadas para la pesca, esto se debe que ciertas sustancias pueden ingresar al organismo de los peces y por ende intoxicar a los futuros consumidores. Uno de los líderes indígenas entrevistados afirmó que

las plantas utilizadas por ellos no contaminan a los animales, pudiéndose consumir los peces sin ningún problema de intoxicación por ingestión con fines alimenticios, al menos en el caso de los (*ysypo*).

El presente trabajo constituye el primer reporte sistemático que atribuye nombres científicos actualizados a los vernaculares, citados por antropólogos, de plantas ictiotóxicas utilizadas por comunidades indígenas del Paraguay. Además se menciona por primera vez una especie cuyo uso como barbasco no fue citado antes en el país *Thinouia compressa*. Mediante las visitas a comunidades indígenas Mbya guaraní se pudo constatar la vigencia de esta práctica, y coleccionar especímenes vegetales utilizados para la pesca.

AGRADECIMIENTOS:

Nuestros agradecimientos a las siguientes personas e instituciones:

Nicolás Guefos, Decano de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN), por el apoyo económico para la ejecución y presentación del trabajo.

Bonifacia B. de Bertoni del área de Botánica del Departamento de Biología de la FACEN por guiarnos en el desarrollo del proyecto.

Pastor Arenas, por sus oportunas observaciones y el habernos estimulado para realizar la investigación.

Cristina Morales de Guyra Paraguay y a los guardaparques de la Estación Biológica Kanguery de la Reserva San Rafael, por el apoyo logístico.

David Galeano por facilitarnos el contacto con antropólogos especialistas en el tema.

Frederick Bauer, de FACEN, por las correcciones y sugerencias.

Rosa Degen y Gloria Delmás, del Herbario FCQ, por permitirnos acceder a las bibliografías y a la colección científica.

Un reconocimiento especial a los integrantes de las comunidades Mbya Guaraní ubicadas en el área del Parque Nacional San Rafael, en especial a los líderes Eusebio Chaparro y Aníbal Benítez, por transmitirnos su gran conocimiento sobre la naturaleza.

Ariel Mencia del Museo Etnográfico Andrés Barbero, por facilitarnos las bibliografías pertinentes.

Marcelo Pozzo por la toma de fotografías en el campo.

Carolina Rodríguez Alcalá por sus ilustraciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Ambrosetti, J. B. 1895. Los indios Caingú del Alto Paraná (Misiones). Bol. Inst. Geogr. Argentino 15: 661-744.
- Bertoni, M. 1927. La civilización guaraní. Parte III: Conocimientos. La higiene guaraní y su importancia científica y práctica. La medicina guaraní. Conocimientos Científicos. Ex sylvis. Alto Paraná. 531 pp.
- Cadogan, L. 1972. Ta-nygy puku: Aportes a la etnobotánica guaraní de algunas especies arbóreas del Paraguay oriental. Suplemento Antropológico 7(1 – 2): 7 – 74
- Evert, T. et al 2007. What Works in the Field? A Comparison of Different Interviewing Methods in Ethnobotany with Special Reference to the Use of Photographs. Economic Botany 61 (4): 376-384.

- Ferrucci, M. S. 1991: Sapindaceae.- In: Spichiger, R. S. & Ramella, L. (ed.), Flora del Paraguay, Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève. Missouri Botanical Garden. 144pp
- Gatti, C. 1985. Enciclopedia Guaraní – Castellano de Ciencias Naturales y Conocimientos Paraguayos. Arte nuevo editores. Asunción. 329 pp.
- Gonzalez torres, D. M. 1987. Cultura guaraní. Editora Litocolor. Asunción. 269 pp.
- Gonzalez torres, D. M. 2005. Catálogo de plantas medicinales (y alimenticias y útiles) usadas en Paraguay. Servilibro. Asunción. 456 pp.
- Hoehne, F. C. 1978. Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais. Novos Horizontes. Sao Paulo. 355 pp.
- Keller, H. A. 2008. *Thinouia mucronata* (Sapindaceae), una especie ictiotóxica utilizada por los Guaraníes de Misiones, Argentina. Bonplandia 17(1): 47-53.
- Lopez, J. A. et al. 1987. Árboles Comunes del Paraguay: Ñande yvyra mata kuera. Cuerpo de Paz. Colección de Intercambio de Información. 425 pp.
- Marin, G. et al. 1998. Plantas Comunes de Mbaracayú: Una Guía de las Plantas de la Reserva del Bosque Mbaracayú, Paraguay. The Natural History Museum. Londres. 172 pp.
- Meliá, B. et al. 1976. Los Paî-Tavyterâ: Etnografía guaraní del Paraguay contemporáneo. Centro de Estudios Antropológicos de la Universidad Católica. Asunción. 294 pp.
- Ortega Torres, E. et. al. 1989. Noventa especies forestales del Paraguay. .- In: Spichiger, R. S. (ed.), Flora del Paraguay. Serie especial N° 3. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève. Missouri Botanical Garden. 218 pp.
- Pin, A. et. al. 2009. Plantas Medicinales del Jardín Botánico de Asunción. Asociación Etnobotánica Paraguaya. Asunción 441pp.
- Rondón, J. 2002. Guía descriptiva de los barbascos de Venezuela. Revista de la Facultad de Farmacia. Vol. 43: 34-42.
- Scarpa, G. F. 2007. Plantas asociadas a la pesca y a sus recursos por los Indígenas Chorote del Chaco Semiárido (Argentina). Bol. Soc. Argent. Bot. 41 (3-4): 333 – 345.
- Steward, J. 1949. Handbook of South American Indians. Vol 5. Boletin 143. Washington. 818 pp.
- Susnik, B. 1982. Los aborígenes del Paraguay – Cultura Material. Tomo IV. Museo etnográfico Andrés Barbero (M.E.A.B). Asunción. 237 pp.
- Susnik, B. 1990. Guerra. Transito. Subsistencia (Ámbito americano). Tomo V. Editora Litocolor. Asunción. 190 pp.
- Zuloaga, F. O. y O. Morrone (eds.). 2004. *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina*. II. [en línea] <http://www.darwin.edu.ar/Publicaciones/CatálogoVascII/CatálogoVascII.asp> [Consulta: julio 2010]
- <http://procosara.org/es/san-rafael> [Consulta: octubre 2010]

Anexo: 1

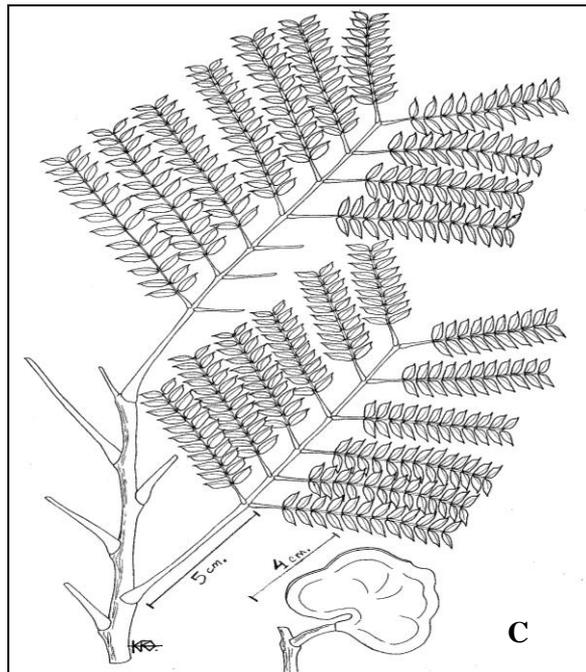
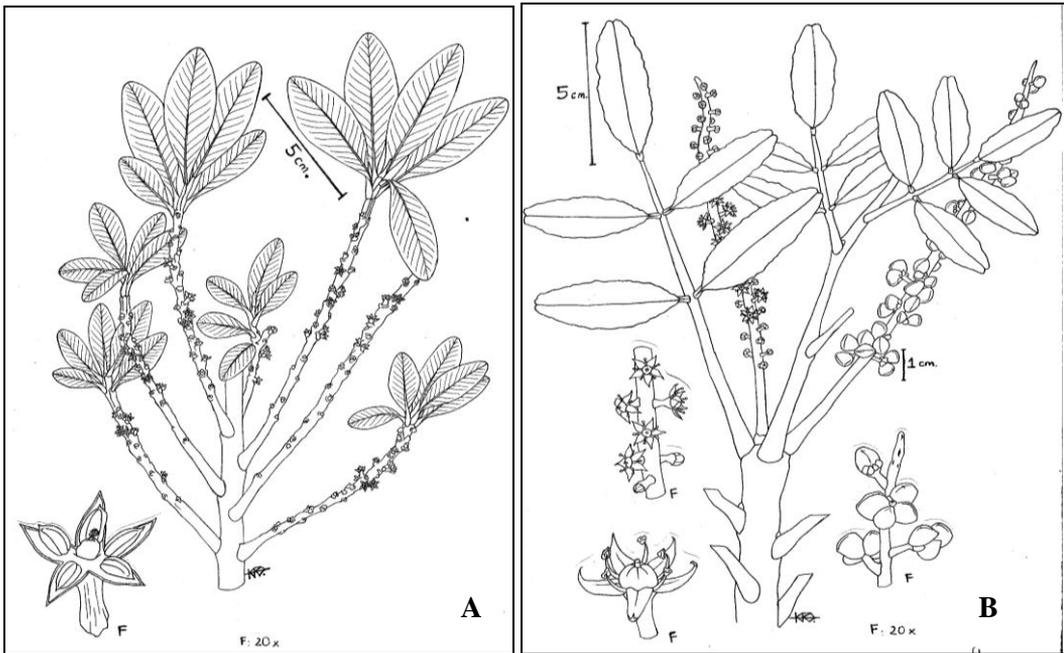


Fig. 6 A, B y C. Especies ichtiotóxicas: *Myrsine umbellata* (A), *Pilocarpus pennatifolius* (B), *Enterolobium contortisiliquum* (C)

Screening fitoquímico preliminar de *Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barneby & J.M. Grimes

Miguel Martínez¹, Claudia Pereira², Fidelina González², Bonifacia Benítez F.²

¹ Departamento de Biología, Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

² Departamento de Biología, Herbario FACEN. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

E mail del autor: miguelangelquimi@hotmail.com

Screening fitoquímico preliminar de *Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barneby & J.M. Grimes.

Para la realización del Screening Fitoquímico preliminar de la especie *Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barneby & J.M. Grimes, se han tratado los extractos obtenidos que contienen a los metabolitos secundarios, con agentes cromógenos y sustancias que forman precipitados. Para la identificación se han empleado métodos de cromatografía en capa delgada (TLC) y localización de bandas de absorción en el espectro ultravioleta. La detección de alcaloides se realizó mediante una extracción previa con Na₂CO₃ en medio metanólico e identificación posterior por las pruebas de Dragendorff, Mayer, Wagner, Hager y confirmación por TLC. La extracción de flavonoides se realizó a través de metanol en caliente e identificación posterior por las pruebas de Shinoda, Marini-Bettólo, formación de color por disolución en ácido sulfúrico y confirmación por TLC. La identificación de catequinas fue posible al hervir el vegetal en ácido clorhídrico 2N, generando una coloración café-amarillenta, confirmando su presencia. Las saponinas, previa extracción metanólica, se identificaron por cromatografía en capa delgada (TLC), revelando la placa con reactivo vainillina-ácido sulfúrico y posterior calentamiento hasta reacción de color. La presencia de aminoácidos fue confirmada a través de la reacción con ninhidrina con la que forma el complejo denominado púrpura de Ruhemann. Los taninos fueron identificados precipitándolos con solución de gelatina-NaCl, y la presencia de esteroides y metil esteroides por medio de la prueba de Liebermann-Burchard. Las pruebas para la identificación de metabolitos secundarios generaron respuestas suficientemente óptimas, confirmandose la presencia de los mismos en la especie estudiada.

Palabras clave: *C. tenuiflorum* - agentes cromógenos – TLC - metabolitos secundarios

***Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barneby & J.M. Grimes, preliminary phytochemical screening.**

To carry out the phytochemical screening of species *Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barneby & J.M. Grimes, the plants extracts containing secondary metabolites were treated with chromogenic agents and substances that form precipitates. Thin Layer Chromatography (TLC) and detection of certain absorption bands in the ultraviolet were used for identification. To perform alkaloids detection, samples were previously treated with hot methanol and Na₂CO₃, then, identified by Dragendorff, Mayer, Wagner, Hager tests and confirmed by TLC. For flavonoids extraction hot methanol was used and posterior identification by Shinoda, Marini-Bettólo and dissolution in sulphuric acid tests with TLC confirmation. Catechins identification was made by boiling the plant in 2N hydrochloric acid, turning into a brown-yellow colour, which confirmed their presence. Saponins identification were performed by TLC, with hot methanolic pre extraction, and developed by vanillin-sulfuric acid reagent sprinkling and hot plate heating until color reaction. Aminoacids presence was confirmed by a ninhidrydren reaction forming the purple Ruhemann complex. Tanins were identified by a reaction using gelatin-NaCl dissolution and sterols and methyl sterols by Liebermann-Burchard test. All tests for the identification of secondary metabolites generated optimal responses, confirming their presence in the tested species.

Key words: *C. tenuiflorum* - chromogenic agents – TLC - secondary metabolites

INTRODUCCION

Los productos naturales de origen vegetal son recursos renovables de múltiple uso para el hombre (Domínguez, 1973). Le proporcionan alimentos para la subsistencia, fibras textiles para vestirse y material para construir casas; deleitan por su aroma y colorido; curan o intoxican, según sus propiedades; y regeneran el aire que respira (Domínguez, 1973). Producto natural en términos amplios, lo es cualquier producto aislado de fuentes naturales vivas, ya sean éstas bacterias, hongos, plantas o animales (Marco, 2006). Cualquier organismo viviente contiene en su estructura una gran cantidad de productos químicos, en su mayoría orgánicos (es decir, carbonados) (Marco, 2006). Como estos compuestos químicos son el resultado de la actividad metabólica, es frecuente denominarlos también *metabolitos* (Marco, 2006). Los metabolitos secundarios se dan de manera restringida, generalmente en pequeñas cantidades, en ciertos tipos concretos de organismos y no en otros (Marco, 2006). Como su nombre indica, no son esenciales para la vida como tal, aunque ello no excluye la posibilidad de que puedan ser de gran utilidad para el organismo particular que los produce (Marco, 2006). Los tipos estructurales a los que pertenecen los metabolitos secundarios son, en contraste con los primarios, enormemente variados (Marco, 2006). A diferencia de la mayoría de estos últimos, no son casi nunca de naturaleza polimérica y sus pesos moleculares pocas veces sobrepasan los 1000 Da (Marco, 2006). Pueden definirse muchos tipos de criterios para intentar clasificar los metabolitos secundarios (Marco, 2006). Hasta hace pocas décadas, los criterios importantes solían aludir a

alguna característica estructural (por ejemplo, compuestos fenólicos, esteroides, etc.), a alguna propiedad química (por ejemplo, la basicidad propia de los alcaloides) o a alguna fuente de procedencia común (por ejemplo, glicósidos cardiotónicos del género *Digitalis*) (Marco, 2006). Las sustancias que las plantas elaboran y acumulan en sus tejidos son importantes desde el punto de vista farmacéutico, porque muchas poseen propiedades farmacológicas y pueden utilizarse en la preparación de los medicamentos (Ortiz, 1995). En algunos casos, los medicamentos se preparan a partir de los extractos crudos de las plantas debido a que el principio activo no ha sido aislado, o bien porque el extracto total tiene una actividad en relación con otras sustancias que se encuentran asociadas al principio activo (Ortiz, 1995). Muchos de los constituyentes orgánicos de las plantas que se usan terapéuticamente, también se utilizan para la preparación de bebidas, condimentos para alimentos, colorantes, aromatizantes u odorizantes; por ejemplo, las hojas de té y los granos de café que producen la cafeína (Daniel, 2005), alcaloide de aplicación medicinal, se usan en la dieta alimenticia como bebidas; en el mismo caso está el ginger, que además de su uso farmacéutico se emplea en grandes cantidades en la fabricación de bebidas refrescantes (Ortiz, 1995). En este trabajo el propósito de realizar un screening fitoquímico de la especie *Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barneby & J.M. Grimes, (tataré), es conocer cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en esta especie, de modo que a posteriori se pudiera profundizar más para conocer cuales metabolito(s) actúa(n) como sustancia(s) tintórea(s), para su aplicación en el ámbito

textil, que es la intención primaria de este trabajo que corresponde a la etapa inicial del trabajo general.

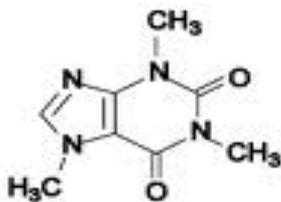


Fig.1. Cafeína, molécula

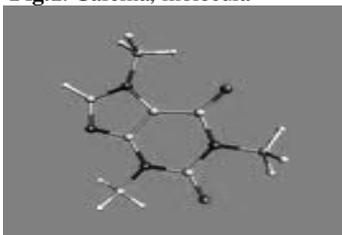


Fig. 2. Cafeína, modelos de Bolas y Varillas

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de obtención de muestras

El sitio de obtención de muestra corresponde a un ecosistema perturbado, zona urbana del Departamento Central, Distrito Capiatá con las siguientes Coordenadas Geográficas: 25° 21' 44" S 57° 29' 02" O.

Descripción de la planta

Es un árbol de 17 m de altura, con ramificación irregular de ramas muy densas. Con 1 o 2 espinas en los nudos. El tallo principal, corto, se presenta curvado y de aspecto tortuoso. La corteza externa es agrietada, de color amarillo, corchosa, gruesa y áspera, con surcos longitudinales muy marcados, se observa un fácil desprendimiento de la corteza más externa en trozos grandes. Al realizarse incisiones en

la corteza adquiere un color amarillento, que se vuelve ocráceo-rojiza después del corte, se observa una savia rojiza;. Hojas compuestas, de disposición alterna, bipinnadas, con 2, 3 y 4 pares de pinnas en cada hoja. Fruto en vaina espiralada, con una longitud de 12 cm, de color verde en su etapa inicial de fructificación y se vuelve negrozco con la madurez. Ver Fig. 3 a, b, c, d.

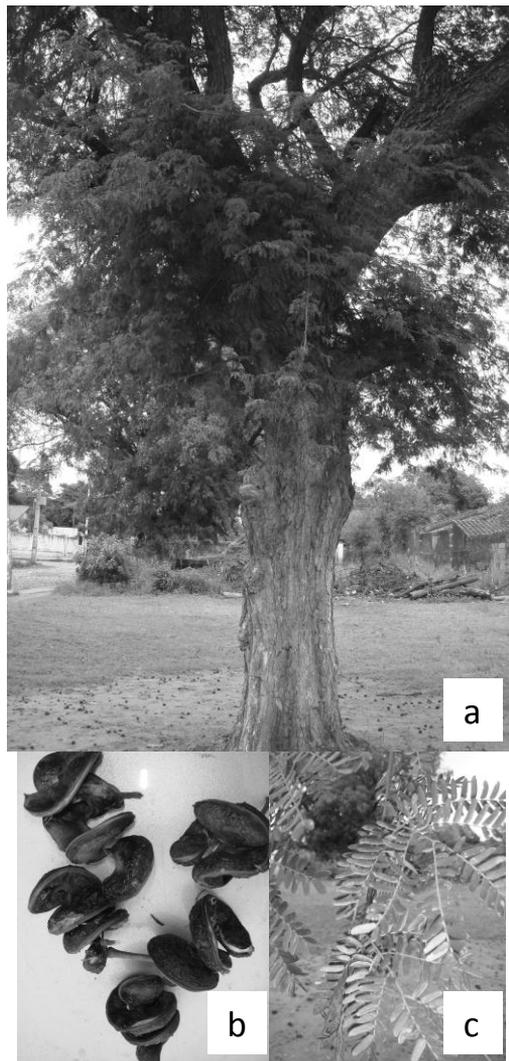




Fig. 3 a. Planta de *Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barneby & J. W. Grimes – **b.** Fruto – **c.** Hojas – **d.** Corteza. (material testigo, Col.: Benítez, 1230)

Equipos

La observación de las manchas en las placas de TLC se realizó por medio de un revelador con luz UV de 264 y 366 nm de la línea Spectroline Q-22NF de Spectronics Corporation. Espectrofotómetro UV-Visible modelo Shimadzu serie 160A para la realización del barrido espectral en la zona ultravioleta.

Sustancias y preparados químicos

El agua utilizada para la preparación de reactivos fue calidad destilada. Los reactivos para la realización de ensayos cualitativos de los metabolitos secundarios fueron grado pro-análisis de las marcas Merck, Anedra y Cicarelli. Los reactivos utilizados fueron: ácido pícrico, yodo bisublimado, yoduro de potasio, carbonato de sodio, subnitrito de bismuto, cloruro de mercurio (II), magnesio en polvo, pentacloruro de antimonio, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, metanol, cloroformo, acetato de etilo, tetracloruro de carbono, hidróxido de amonio, tolueno y etanol. Las placas de

TLC con base de aluminio utilizadas fueron de Silica gel 60F₂₅₄ previamente recubiertas, de la marca Merck.

Preparación del material vegetal

El material vegetal fue secado a temperatura ambiente durante 15 días, molido con un molino de cuchillas (Fig. 4), y pasado a través de una malla ANALYSENSIEB RESTSCH de 0,5 mm (Fig. 5) para lograr la homogeneidad de la muestra.



Fig. 4. Corteza vegetal molida



Fig. 5. Tamizado de corteza vegetal

RESULTADOS

Tabla 1. Identificación de Alcaloides por reacción química y cromatografía en capa delgada

Parámetro	Mayer	Dragendorff	Hager	Wagner	Marquis	TLC
Alcaloides	++	+++	++	+++	-	+++



Fig. 6. Reacción con reactivo de Dragendorff



Fig. 7. Reacción con reactivo de Mayer

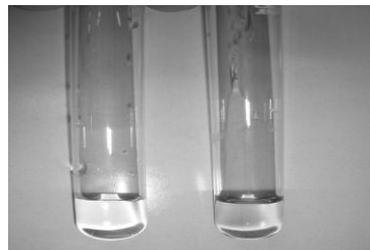


Fig. 8. Reacción con reactivo de Marquis

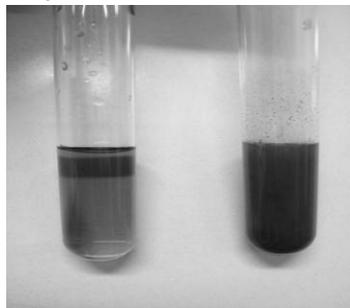


Fig. 9. Reacción con Reactivo de Wagner



Fig. 10. Reacción con Reactivo de Hager



Fig. 11. Aplicación del extracto sobre la Placa de TLC



Fig. 12. Revelado del TLC con el reactivo de Dragendorff

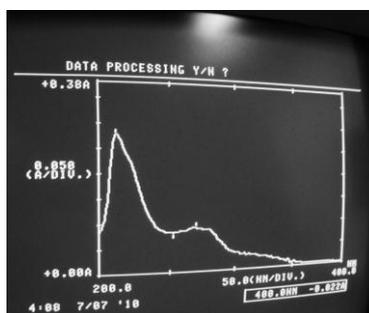


Fig. 13. Barrido espectral de alcaloides en la zona UV

Los alcaloides fueron separados por TLC de los demás componentes e identificados como positivos al generar manchas de color naranja (Fig. 12) al asperjar la placa de TLC con el reactivo Dragendorff, avalando de esta manera las reacciones coloridas realizadas a través de las pruebas de Wagner (Fig. 9), Mayer (Fig. 7) y Hager (Fig. 10) que generaron respuestas positivas a la presencia de alcaloides. La prueba de Marquis dio un resultado negativo (Fig. 8)

para éstos metabolitos. Los alcaloides presentes en el precipitado obtenido en la prueba de Dragendorff fueron liberados con solución de carbonato de sodio y extraídos con éter etílico para obtener el barrido espectral en la zona del ultravioleta, observándose dos picos característicos a 212 y 268 nm respectivamente, con la máxima absorción en el pico de 212 nm.

Tabla 2. Identificación de Flavonoides por reacción química y Cromatografía en Capa Delgada

Parámetro	Shinoda	Marini-Bettólo	Disolución en H ₂ SO ₄	Cloruro Férrico	Hervor en HCl 2N	TLC
Flavonoides	++	±	++	+++	++	+++

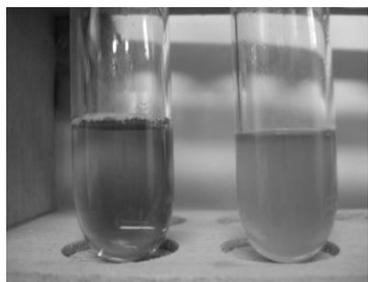


Fig. 14. Prueba de Shinoda

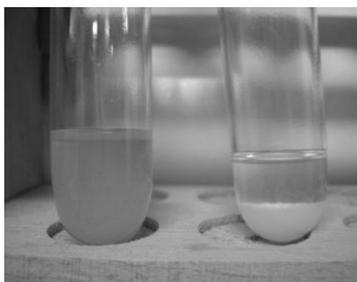


Fig.15. Prueba de Marini-Bettólo

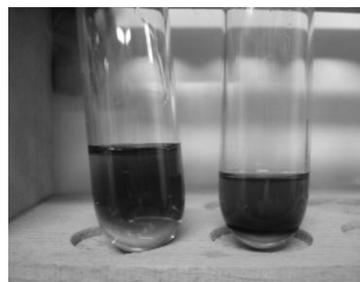


Fig. 16. Disolución con H₂SO₄

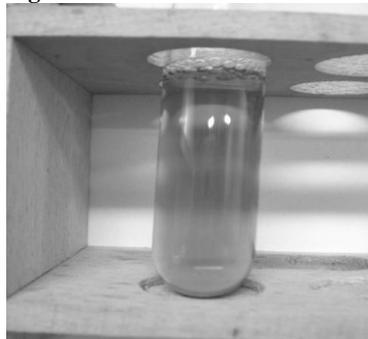


Fig. 17. Hervor con HCL 2N

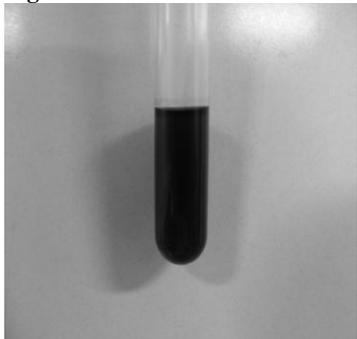


Fig. 18. Reacción con FeCl₃

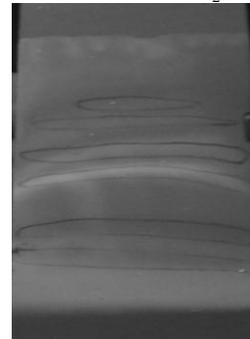


Fig. 19. Cromatografía en capa delgada

La reacción positiva a la prueba de Shinoda (Fig. 14) indica la posible presencia de flavonas, flavononas, flavonoles, flavononoles o xantonas. La reacción positiva a la prueba de Marini-Bettólo (Fig. 15) formando un precipitado ligeramente amarillo podría deberse a la presencia de flavonas. La disolución con ácido sulfúrico concentrado (Fig. 16) generó un color amarillo en el fondo del tubo lo que podría deberse a la presencia de flavonas

y flavonoles. El hervor del vegetal en medio ácido clorhídrico genera un color café amarillento (Fig. 17) lo que indicaría la posible presencia de catequinas. La separación de los flavonoides por TLC generó seis manchas que fluorescen bajo la luz UV de 366 nm generando colores de las gammas azul y violeta (Fig. 19) lo que indicaría la posible existencia de seis tipos de flavonoides en la especie estudiada.

Tabla 3. Identificación de saponinas por agitación mecánica y Cromatografía en Capa Delgada

Parámetro	Prueba de la Espuma	TLC
Saponinas	+++	+++

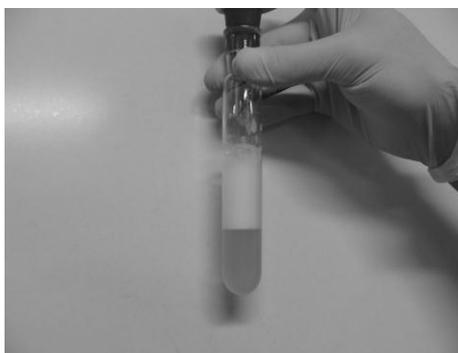


Fig. 20. Prueba de la espuma

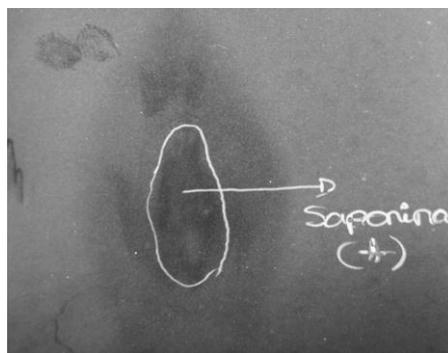


Fig. 21. TLC revelado con el reactivo Vainillina-H₂SO₄

En cuanto a las saponinas la identificación fue realizada por TLC según Plant Drug Análisis, generando una mancha de color morado (Fig. 21) característico que indica su presencia en la especie estudiada y

confirmada a través de la prueba de la espuma (Fig. 20) que permaneció durante más de 30 minutos a una altura bastante considerable.

Tabla 4. Identificación de Esteroles y metilesteroles por reacción química

Parámetro	Prueba de Liebermann-Burchard
Esteroles y metilesteroles	+++

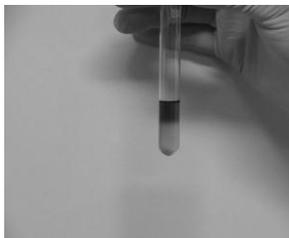


Fig. 22. Reacción cualitativa para esteroles y metilesteroles

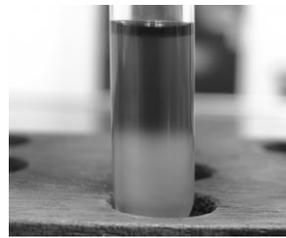


Fig. 23. Vista de la capa superior verde indicativo de la presencia de esteroles y metilesteroles

La prueba de Liebermann-Burchard dio positivo generando un color verde (Fig. 22 y 23) indicando la posible presencia de esteroles y metilesteroles. Se habla de posible presencia debido a que no hay reacciones verdaderamente específicas para

estos metabolitos, ya que otros tipos de sustancias, tales como glicósidos cardiotónicos, esteroalcaloides, saponinas di y triterpenos también dan reacciones positivas a esta prueba debido a que poseen detalles estructurales comunes análogos.

Tabla 5. Identificación de Taninos por reacción química

Parámetro	Reacción con gelatina- NaCl
Taninos	+++

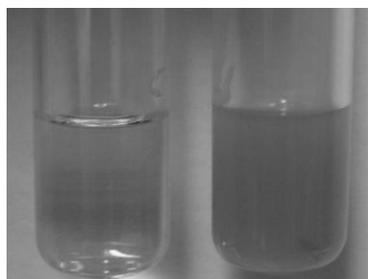


Fig. 24. Reacción con $FeCl_3$

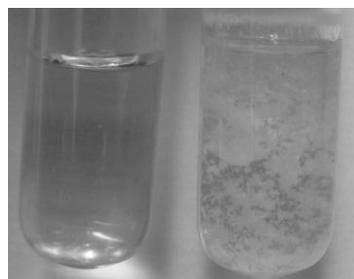


Fig. 25. Reacción con gelatina-NaCl

Taninos dieron positivos con la prueba de gelatina-cloruro de sodio a través de la formación de un precipitado blanco (Fig. 25) que se redisolvió con solución de urea al 10%. Una reacción con solución de cloruro férrico generó precipitado (Fig. 24) lo que implicaría la presencia de compuestos

fenólicos y/o taninos. Otra prueba confirmatoria para fenoles con solución de $FeCl_3$ generó un color verde-negro (Fig. 18).

Tabla 6. Identificación de Aminoácidos por reacción química

Parámetro	Reacción con ninhidrina
Aminoácidos	+++

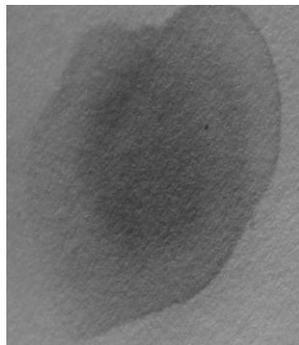


Fig. 26. Complejo morado púrpura de Ruhemann

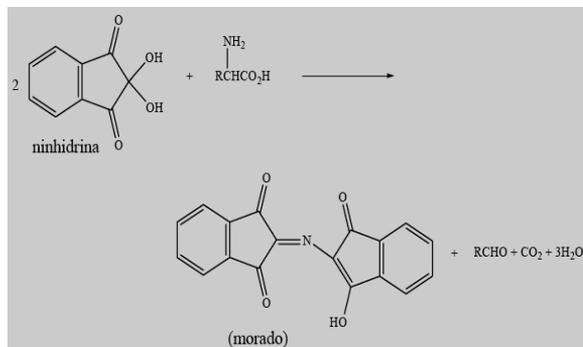


Fig. 27. Reacción general de la ninhidrina con un aminoácido

Finalmente una prueba para la detección de aminoácidos dio positiva con ninhidrina a través de un ensayo a la gota, visualizando su presencia a través de la formación de un complejo morado (Fig. 26) llamado púrpura de Ruhemann cuya reacción de formación se observa en la Fig. 27.

Leyenda: (-) ausencia, (±) dudoso, (+) presencia leve, (++) moderada, (+++) intensa

DISCUSIÓN

Para la identificación de alcaloides por TLC se utilizó el sistema de solventes **AL-5** en lugar del **AL-1** recomendado en el Plant Drug Análisis (pág. 54-1^o edición); debido a que con el sistema **AL-1** los alcaloides quedaron retenidos en la línea inicial de la placa de TLC donde se sembró el extracto. En la extracción de alcaloides, flavonoides y saponinas se utilizó una extracción metanólica en caliente pero por un tiempo más prolongado que el recomendado por el Plant Drug Análisis, con cuatro extracciones sucesivas y posterior concentración antes de

aplicar el extracto sobre la placa de TLC. Para la observación de las reacciones producidas para la identificación de flavonoides, se utilizó extracto metanólico de *Tagetes patula* L., antes de ensayar con la muestra. Posteriormente se hicieron las comparaciones entre ambos extractos, en donde la prueba de Marini-Bettólo generó un resultado dudoso debido a que en vez de generar un precipitado amarillo-naranja produjo un precipitado de color blanco.

CONCLUSIÓN

El screening fitoquímico preliminar de *Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barneby & J.M. Grimes, ha generado una serie de informaciones sobre dicha especie. Se ha confirmado la presencia positiva de alcaloides por medio de cinco pruebas distintas, saponinas por medio de dos pruebas, flavonoides, de interés principal en este trabajo, han sido identificados por medio de seis pruebas diferentes, entre ellas la de TLC que brinda la información sobre la existencia de seis posibles tipos de

flavonoides según la separación de las mismas sobre la placa y revelado bajo la luz ultravioleta. Se confirma la presencia además de esteroides y metilesteroides así como la de taninos y aminoácidos. Estos resultados preliminares permitirán seguir con estudios más profundos que serán generados en etapas posteriores a este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Bruneton J. 2001. Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales, Editorial ACRIBIA, S.A., Zaragoza-España, 3^o Edición. 1099 pp.
- Domínguez X. A. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica, Editorial Limusa, S.A., México- México, 1^o Edición. 281 pp.
- Evans W. C. 1991. Farmacognosia, Interamericana Mc Graw-Hill, 13^o Edición. 901 pp.
- Harris, D. C. 2001. Análisis Químico Cuantitativo. Editorial Reverté, 2^a edición. España. 981 pp.
- Marco J.A. 2006. Química de los productos naturales, Editorial Síntesis, S.A., Madrid-España. 284p.
- Ortiz C.V., 1995. Fundamentos de Fitoquímica, Editorial Trillas, S.A., México-México. 235p.
- Villar del Fresno A. M^a. 1999. Farmacognosia General, Editorial Síntesis. 335 pp.
- Wagner H., S. Bladt, E.M. Zgainski. 1983. Plant Drug Análisis, Springer- Verlag Berlin Heidelberg, 1^o Edición. 320 p.
- Zelada B. R., Estudio Taxonómico y Fitoquímico de *Flaveria bidentis* (L.) KUNTZE (ASTERACEAE), Tesis para optar el título profesional de Biólogo Mención Botánica (2003) 141.

Morfología y micrografía del ka'a he'e, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, provenientes de cultivares del Departamento de Concepción, Paraguay⁴

Bonifacia Benítez¹, Claudia Pereira¹, Fidelina González¹, Carlos Molinas², Siemens Bertoni³

¹Departamento de Biología. Herbario FACEN. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción. Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay.

²Departamento de Matemática. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción. Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay.

³Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Agrarias-Universidad Nacional de Asunción. Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay.

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

⁴Trabajo de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, financiado por el Rectorado de la Universidad Nacional de Asunción durante el año 2009.

Morfología y micrografía del ka'a he'e, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, provenientes de cultivares del Departamento de Concepción, Paraguay. En este trabajo de investigación, se realizó el análisis morfo-anatómico de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, para lo cual se aplicó los métodos micrográficos aplicados por Carpano & al (1994) y Spegazzini (2007). Así también, se evaluó la variación del tamaño foliar en 50 individuos de muestras provenientes de cultivares del Departamento de Concepción. De la observación de la anatomía foliar, caulinar y radical, se obtuvo la caracterización de los tejidos que forman parte de los órganos evaluados. Aplicando el análisis estadístico no paramétrico de Kruskal-Wallis, se concluyó que existen diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre las diferentes plantas tanto para el ancho como así también para el largo de las hojas. Del análisis bivariado sobre ambas variables, se obtuvo que r^2 : 0.66.

Palabras claves: *Stevia rebaudiana* – micrografía - variación foliar

Morphology and micrography of ka'a he'e, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, cultivars in Conception, Paraguay. In this research work was carried out morphological and anatomical analysis of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni was carried out, for which a micrographic method applied by Carpano & al (1994) and Spegazzini (2007). Also the variation leaf size in 50 individuals from samples from a pool of Concepción was assessed. From observation of the leaf anatomy, cauline and radical, tissue characterizations that are part of the organs evaluated were obtained. Using nonparametric Kruskal-Wallis statistical test, It is concluded that there are significant differences ($p < 0.0001$) between the different plants both for width and length of leaves. From the bivariate analysis on the length and width, it was obtained that r^2 : 0.66.

Key words: *Stevia rebaudiana* – micrography - leaf variation

INTRODUCCION

Los estudios morfológicos y caracteres importantes de las especies, a fin de poder ser utilizados en los procesos de control de calidad de productos vegetales

comercializados en el país.

La especie *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, perteneciente a la familia de las Asteraceae, tiene como epicentro de origen el Paraguay; sin embargo, de acuerdo a Cabrera, Colmes & Mc Daniel (1996), su distribución, además de los Departamentos de Amambay y Concepción, su área natural llega también al Estado de Matto Grosso do Sul, Brasil. Sin embargo actualmente es frecuente observar el cultivo en diferentes localidades del Paraguay Oriental.

A nivel regional, han sido realizados estudios que abarcan aspectos morfo-anatómicos principalmente sobre la estructura foliar, en el que se han identificado características como la presencia de estomas anomocíticos (Dematei Gregio & Moscheta, 2006), así como estudios sobre patrones de distribución de la superficie foliar, para evaluar el desarrollo y el crecimiento de la planta (Ramesch, Ramawat & Sing, 2007); así mismo, la descripción del desarrollo de los trichomas glandulares realizados por Rossi Monteiro et al (2001) e investigaciones cromosómicas, llevados a cabo por Oliveira et al (2004).

En cuanto a investigaciones desde el punto de vista químico, se menciona que *S. rebaudiana*, se caracteriza por presentar glicósidos diterpénicos dulces (Gattuso & al, 2003).

De igual manera, Ianiv & Bachrach (2005), han realizado estudios de la especie citada, mencionando sobre la evidencia de la participación de genes específicos y en etapas de la biosíntesis, en la formación de mono-di y tetraterpenos, alcaloides fenólicos volátiles y otros metabolitos secundarios.

En este trabajo de investigación, se realizó un estudio morfo-anatómico de las partes vegetativas de *S. rebaudiana*, focalizando el análisis sobre especímenes

obtenidos de cultivares, especialmente de muestras foliares y caulinares de la especie, atendiendo a que son las partes más comercializadas. Así también, se estudió la variación del tamaño foliar de las plantas, que presentaron caracteres vegetativos más aproximados a la forma silvestre de la especie.

Fueron analizadas muestras provenientes de especímenes obtenidos de cultivares provenientes del Departamento de Concepción.

Cabe mencionar, que no existen estudios realizados en el país, sobre la morfología y anatomía de las partes vegetativas de esta especie, que son las utilizadas para el aprovechamiento primario de la planta. Si bien existen análisis micrográficos realizados en otras latitudes, las condiciones climáticas y ecológicas son diferentes a las del Paraguay, lo cual podría influenciar en algunos aspectos morfo-anatómico de de la especie referida.

Existe actualmente en el país, hojas molidas de *ka'a he'e*, comercializadas en su forma artesanal; pero no se dispone de un patrón micrográfico de la especie, careciéndose en consecuencia de elementos que permitan evaluar la autenticidad de las muestras comercializadas como tal.

Con los resultados del trabajo, serán beneficiadas las instituciones que realizan el control de calidad de estos productos, así como el consumidor final que tendrá la garantía de la calidad del producto adquirido.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), propone para el control de calidad, los siguientes métodos cuantitativos: Índice de Estomas, Índice o Proporción de Empalizada y el Método de Wallis (Spegazzini, 2007). Sin embargo, otros caracteres morfo-anatómicos, podrían

aportar información útil para los fines mencionados, como lo llevado a cabo en este trabajo.

La evaluación morfo-anatómica foliar y caulinar de la especie, permitirá diferenciar las características propias de su estructura, además de obtener resultados sobre la variación del tamaño foliar en cultivares.

METODO

Diseño de estudio

La metodología de trabajo corresponde a un modelo con aplicación de observación, descripción y análisis de caracteres.

Origen del material estudiado

Las muestras obtenidas y utilizadas para el estudio son provenientes de especímenes obtenidos de cultivares del Departamento de Concepción.

Micrografía de las partes vegetativas y reproductivas

La evaluación de la morfo anatomía de las muestras, se realizó utilizando ejemplares adultos. El material para el estudio histológico de las estructuras, se procesó como espécimen testigo del trabajo, quedando depositado en el Herbario FACEN.

Las muestras fueron sometidas a procesos de deshidratación, ablandamiento, diafanización y coloración con safranina.

Se realizaron cortes transversales a mano alzada de hoja, tallo y raíz, tanto de material fresco como de muestras conservadas en FAA al 10%; se diafanizó con hipoclorito de sodio, se lavó con agua destilada y se sometieron al proceso de tinción.

Para la observación de la epidermis foliar, los fragmentos de hoja fresca se diafanizaron con hipoclorito de sodio durante 24 hs, luego fueron lavadas con agua destilada y llevadas para su observación al microscopio.

La diafanización de las epidermis foliares, así como la eliminación de cutina, se realizó según la técnica de Carpano & al (1994).

Se preparó láminas permanentes que están depositadas en el Herbario FACEN del Departamento de Biología.

Las observaciones fueron realizadas con Microscopio Óptico Compuesto Binocular Olympus Serie BH2, objetivo aumento de 4x, 10x y 20x, y las imágenes se obtuvieron con una Cámara Digital Moticam 352, con aumento de 30x, Software Motic Images Plus 2.0 ML. (2006).

Determinación de la Densidad Estomática(DS)

Para calcular la densidad estomática por unidad de área (mm²) se realizó el conteo de estomas en la cara adaxial y abaxial de la hoja. Se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad estomática (DS): } \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de estomas}}{\text{Área (mm}^2\text{)}}$$

Análisis de la variación del tamaño foliar

El análisis cuantitativo de la variación del tamaño foliar en la planta, se realizó siguiendo el siguiente protocolo de trabajo:

Selección de una población de 50 individuos, con 5 meses de desarrollo, en estado de pre-floración y floración, provenientes de cultivares del Departamento de Concepción.

De los individuos de la población citada se realizaron mediciones de 2 variables: longitud y ancho foliar; de los ejemplares que tenían más de 1 rama, se asumió cada rama como individuos diferentes.

Se registraron todos los datos en una planilla de trabajo.

Análisis estadístico

Para el análisis de la variación del tamaño foliar, se aplicó además del estadístico descriptivo y las pruebas de normalidad y contraste de hipótesis, las Pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis.

Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 10,5 de Nie et al (2000), junto con el manual de Técnicas de análisis multivariante de Datos: Aplicaciones con SPSS (Pérez, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSION

Sitio de estudio

El sitio de extracción de plantas fue de cultivos del Departamento de Concepción, cuyas coordenadas geográficas son las siguientes: S 23° 12' 34,7" WO 56° 50' 35,5".

Descripción morfológica

Hábito: Planta arbustiva, cultivadas alcanzando aproximadamente 0.60 metro (m) de altura. Ver Figs. 1, 2.

Hoja: simple, sésil, oblonga-lanceolada, aproximadamente el 50% de la longitud de la hoja es dentada hacia el ápice y lisa hacia la base. Nervadura pinnada, reticulada, prominente en el envés, ligeramente marcada en el haz, densamente pubescente en ambas caras. 3 nervios nacen desde la

base. Se observan pelos persistentes en todo el margen de la hoja y a lo largo de todas las nervaduras, en especial de la principal. Borde de la hoja engrosada.

Tallo: ramificación lateral como en las espermatófitas, en el extremo y en los distintos niveles, simpódico. Pubescente. En sus primeras fases de desarrollo presenta un tallo único, en su fase final puede presentar numerosos tallos que salen de un mismo sistema radicular. Su raíz es muy ramificada y fibrosa.

Flor: blanca a color crema, pentámera, tubular, pubescencia densa en el cáliz. Pétalos blanquecinos. Inflorescencia en capítulo, con pedicelos cortos.

Fruto: aquenio

Hábitat: cultivado en suelo de tipo arenoso, a pleno sol.



Fig. 1. Hábito

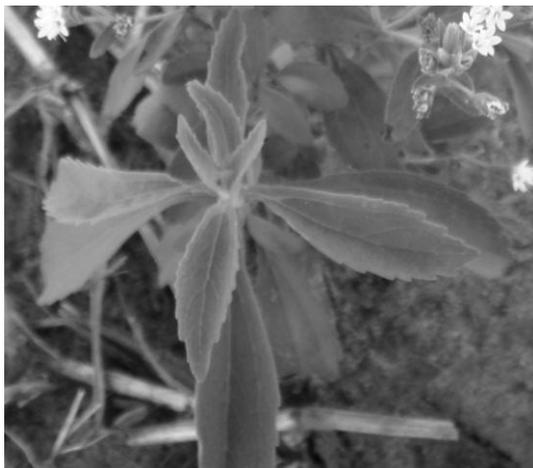


Fig. 2. Hojas

Descripción anatómica

Hoja

-Epidermis superior o adaxial:

Uniestratificado, paredes anticlinales, cutícula gruesa y lisa. Células de contorno ondulados con menor número de estomas en este lado.

-Epidermis inferior o abaxial

Uniestratificado, células de menor tamaño que las de la epidermis superior. Las paredes anticlinales de la epidermis presentan ondulaciones, siendo éstas más pronunciadas en la cara abaxial. Es una hoja anfiestomática, con estomas del tipo anomocítico en ambas caras, coincidiendo con otras especies de la familia de las Asteraceae como *Achillea millefolium* L (Gregio et al, 2006), *Flourensia campestris* Griseb, *F. oolpis* S. F. Blake (Delbon et al, 2007), *S. entrerriensis* (Gattuso et al, 2003); los estomas están rodeados por 4 a 5 células epidérmicas. Ver Fig. 3 y 4.

La Densidad estomática (DS), es mayor por unidad de superficie en la cara abaxial. Ver Tabla 1.

En Asteraceae, familia a la que pertenece la especie estudiada, generalmente los tipos estomáticos son anomocíticos y anisocíticos, predominando el primer tipo (Metcalf & Chalk, 1950), y se encuentra en ambas caras epidérmicas, siendo mayor en la abaxial, clasificándose las hojas como anfiestomática (Budel et al, 2009; Esau, 1974)

-Tricomas

Están presentes dos tipos de tricomas en ambas caras: eglandulares y glandulares.

Tricomas eglandulares: son pluricelulares uniseriados, formado por 4 a 7 células. Corresponde a un tricoma simple, de forma acuminada. En la parte basal de la hoja aparecen pelos que están formados hasta por 11 células, ver Fig. 5. Según Gattuso et al (2003), en *S. entrerriensis* ambas epidermis poseen tricomas simples pluricelulares de 7 a 11 células.

Tricomas glandulares: son pluricelulares biseriados, con un pie unicelular, cabeza oval unicelular y secretora, presentes en ambas caras, lo que a su vez fue citado por Monteiro et al (2001), mientras que Gattuso et al (2003), menciona este tipo de tricomas al describir *S. entrerriensis*. Ver Fig. 6 y 7. Los tricomas glandulares pluricelulares biseriados fueron encontrados también en otras especies de Asteraceae, como *Baccharis microcephala* D.C. y *B. trimera* (Less) DC en Budel et al (2009).

A los tricomas glandulares, así como a los eglandulares son atribuidos diversas funciones, como ser, la contribución de la regulación de la temperatura del vegetal y a la radiación luminosa, barrera para el movimiento de los insectos en la superficie, reducción de la pérdida de agua y orientación de polinizadores (Smiljanic, 2005)

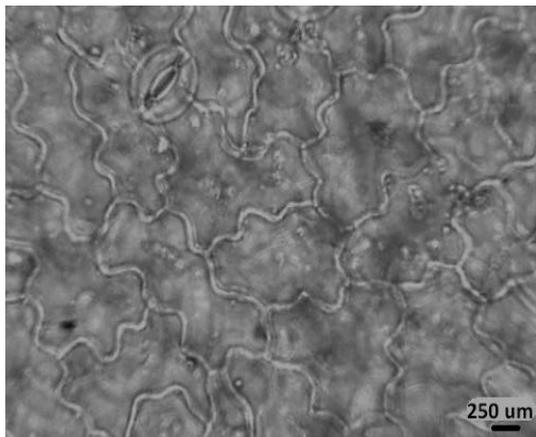


Fig. 3. Epidermis adaxial

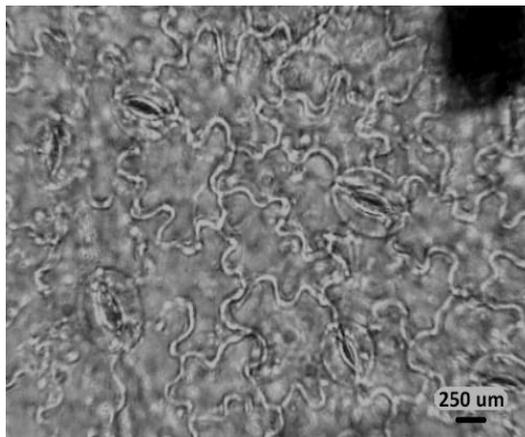


Fig. 4. Epidermis abaxial

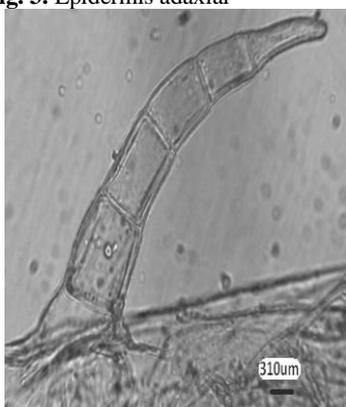


Fig. 5. Tricoma eglandular.

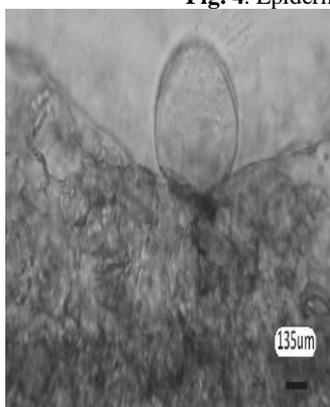


Fig. 6. Tricoma glandular.

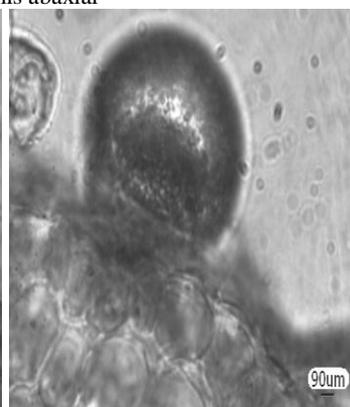


Fig. 7. Tricoma glandular

-Nervadura central

Al nivel de la nervadura central, la epidermis superior (Es) es uniestratificada, rectangulares de menor tamaño en la cara abaxial, con cutícula gruesa y lisa. Por debajo de la epidermis se encuentran 2-4 estratos de colénquima (C). El haz vascular es del tipo colateral, acompañados por casquetes de fibras esclerenquimáticas (Fe) por fuera del floema (F); el xilema (X) se localiza hacia la cara adaxial y el floema hacia la cara abaxial; rodeado por tejido

parenquimático extendiéndose hacia la epidermis inferior (Ei). La nervadura central es más prominente en la cara abaxial de la hoja. Ver Fig.8, 9 y 10.

El haz vascular del tipo colateral, ha sido descrito además para otras especies de Asteraceae, *Stevia claussoni* Sch. Bip. ex Baker, *Achillea millefolium* L. (Dematei Gregio et al, 2006), *Baccharis microcephala* D.C. y *B. trimera* (Less) D.C. (Budel et al, 2009)

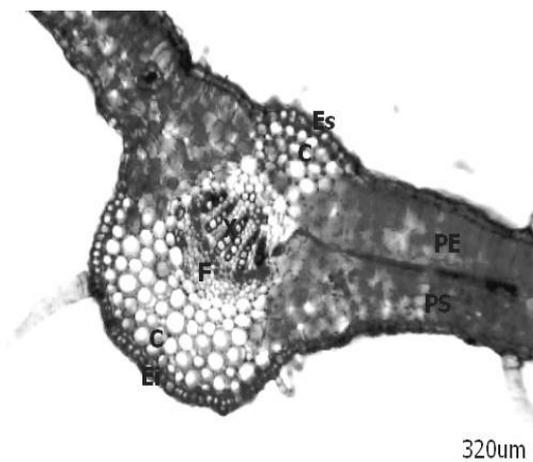


Fig. 8. Corte transversal de hoja

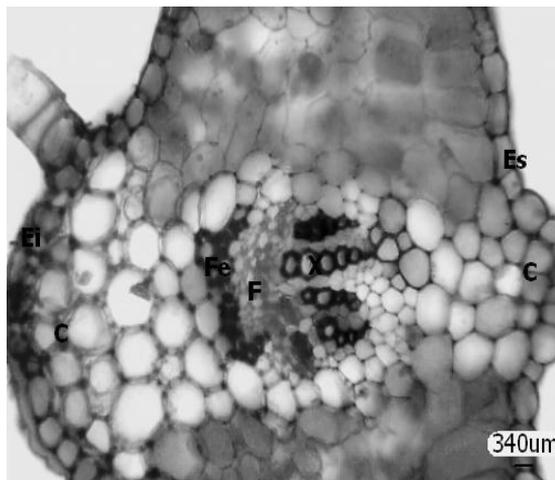


Fig. 9. Nervadura principal

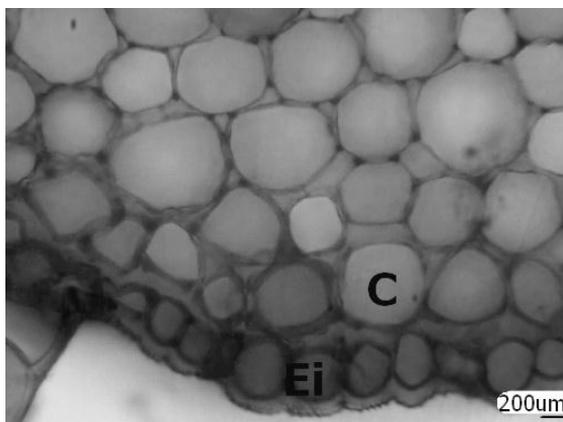


Fig. 10. Nervadura principal

-Mesófilo

La estructura a nivel de lámina foliar, es bifacial con simetría dorsiventral, al igual que *S. clausseni* Sch. Bip. ex Baker (Smiljanic, 2005), presentando dos tipos de parénquima: empalizada (Pe) y esponjoso (Ps).

El parénquima en empalizada es uniestratificada, con células alargadas, mas o menos rectangulares, por debajo de la cara adaxial de la hoja con una longitud de $\pm 546,62$ milimicra (μm), ocupando casi la

mitad del espacio del mesófilo. El parénquima esponjoso, localizado hacia la cara abaxial, con una longitud de $\pm 817,63$ μm , está integrado por células de forma irregulares con meatos o espacios intercelulares amplios. La forma de las células del tejido esponjoso es lobulada. Ver Fig. 11.

Según Metcalfe & Chalk (1950), el mesofilo dorsiventral es considerado como el patrón más frecuente para la familia Asteraceae.

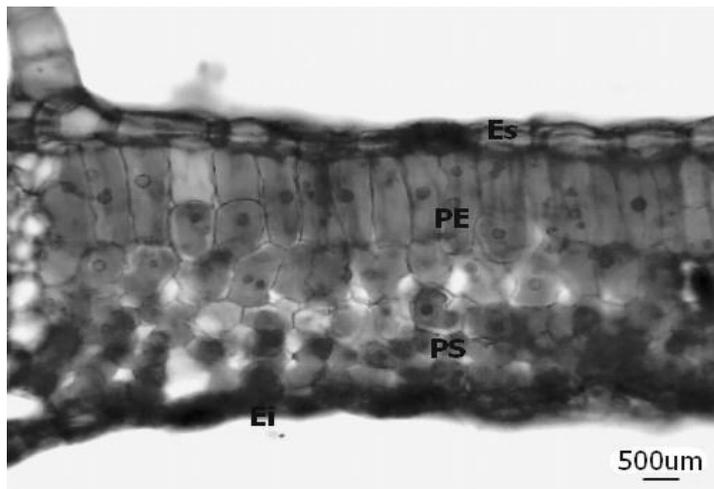


Fig. 11. Lámina foliar, corte transversal

Tallo

En el corte transversal se observa tallo de contorno redondeado.

-Epidermis

Uniestratificado, se observa abundantes tricomas eglandulares pluricelulares uniseriados y tricomas glandulares pluricelulares.

-Corteza

Por debajo de la epidermis (E), se observa de 3 a 5 estratos de colénquima angular en forma de un anillo continuo (C), este tipo de colénquima esta presente también en *B. microcephala* D.C. y *B. trimera* (Less) D.C. (Budel et al, 2009), seguido de 3 a 4 capas de tejido parenquimático, acompañado de clorénquima.

-Cilindro vascular

La disposición del tejido vascular forma una eustela, con haces vasculares del tipo colateral abierto y separados por células parenquimáticas; el floema (F) por fuera esta rodeado por fibras esclerenquimáticas (Fe) y por debajo están los vasos del xilema en las

primeras fases de diferenciación secundaria (X). La Médula es muy desarrollada por ser todavía un tallo joven. La parte central del tallo y rodeado por los haces vasculares se encuentra la médula constituida por células parenquimáticas (Pm) Ver Fig. 12.

Raíz

-Exodermis (Ex)

La epidermis o rizodermis (R), está formada por células alargadas uniestratificada. Los pelos radicales son unicelulares, de $\pm 124-725\mu\text{m}$ longitud.

-Corteza (Cx)

Formada por exodermis, tejido parenquimático cortical pluriestratificado, donde se observa granos de almidón.

-Médula

Separada de la corteza por un tejido endodérmico (En), por debajo del cual se observa el cilindro vascular constituido por el xilema (X) y floema (F), el primero está asociado con fibras esclerenquimáticas, según lo observado en el corte, no se observa aún crecimiento secundario. Ver Fig. 13.

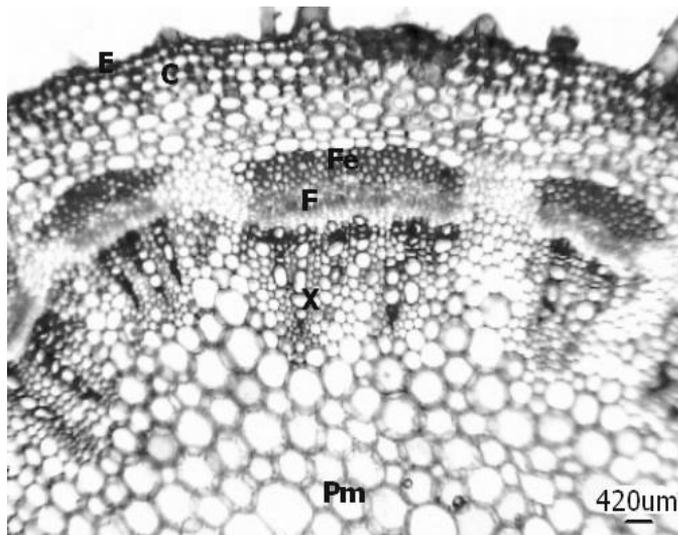


Fig. 12. Corte transversal de tallo

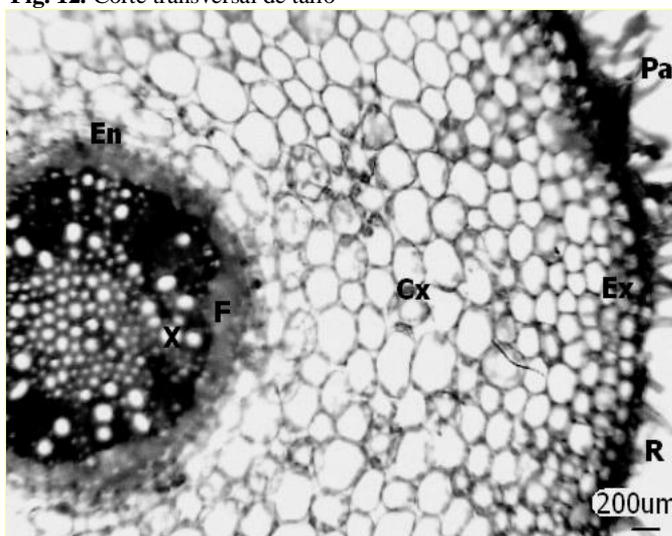


Fig. 13. Corte transversal de raíz

Análisis cuantitativo

Determinación de la Densidad Estomática(DS)

La densidad estomática por unidad de superficie, es mayor en la cara abaxial con respecto a la cara adaxial. Ver Tabla 1.

Tabla 1. Tamaño de la muestra y Promedio de la Densidad Estomática (DS)

<i>S. rebaudiana</i>	Tamaño de la muestra	Promedio de la D. Estomática
Cara adaxial	100	0,29
Cara abaxial	100	1,70

Análisis de la variación del tamaño foliar

La información del análisis corresponde a una población de 50 plantas de *S. rebaudiana*, provenientes de cultivares del Departamento de Concepción, con un total de 801 observaciones. El promedio del ancho de las hojas es de 0.793 centímetro (cm), con un valor mínimo de 0.2 cm y máximo de 2.0 cm, una mediana de 0.7 cm, que indica un sesgo hacia la derecha con una concentración de valores pequeños. La variación es media alta con un coeficiente de variación de 46.2% y los atípicos se dan en los valores bajos. No sigue una distribución normal ($p < 0.0001$) con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y el de Shapiro-Wilk. Ver Fig. 14.

Por otra parte, el promedio del largo de las hojas es de 3.10 con un valor mínimo de 0.6 y máximo de 6.8, una mediana de 2.9 indica un sesgo hacia la derecha con una concentración de valores pequeños. La

variación es media alta con un coeficiente de variación de 41.4% y los atípicos se dan en los valores bajos.

El análisis bivariado ha proporcionado una perspectiva del comportamiento conjunto de las dos variables, largo y ancho de las hojas. Una recta, calculada por regresión lineal, que se ubica en el centro mismo, denota una tendencia lineal con un r^2 : 0.66, así mismo, se muestran los intervalos de confianza del 95% para la media, las rectas extremas superior e inferior, en que se encuentran la mayor parte de los datos. Se aprecia igualmente que solo algunos salen de este rango, del 95%, pudiendo destacar un valor atípico resaltante en extrema inferior y corresponde a un atípico bi-variado.

Utilizando una prueba estadística no paramétrica, de Kruskal-Wallis, se concluye que hay diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre las diferentes plantas, tanto para el ancho como el largo de las hojas

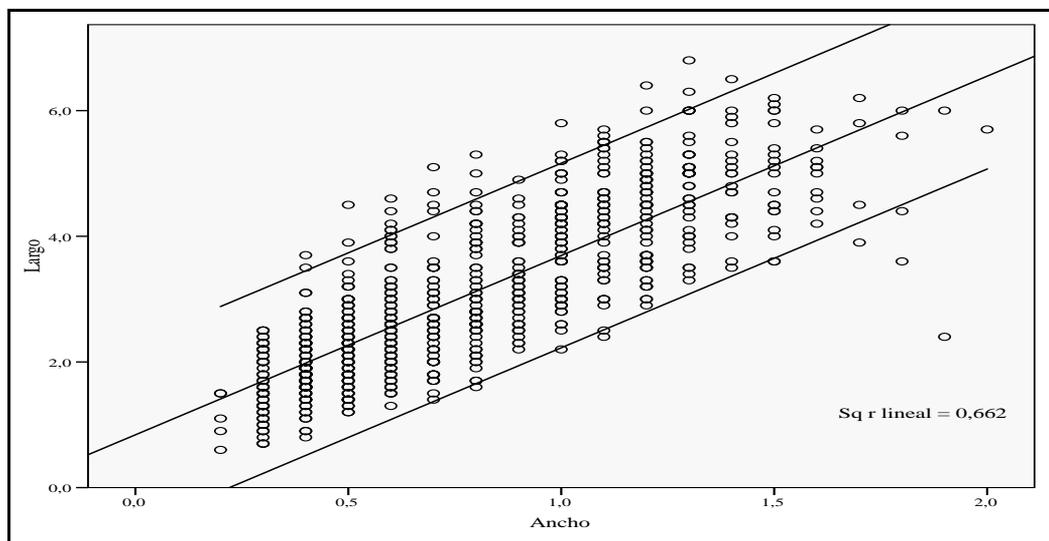


Fig. 14. Dispersión de ancho y largo conjunto de la muestra de hojas

Existe una concentración de datos entre los intervalos de 25% y 50 %, los valores están más dispersos entre el 50 % y 75 %, tanto para ancho como para el largo de las hojas. Ver Fig. 15 y 16.

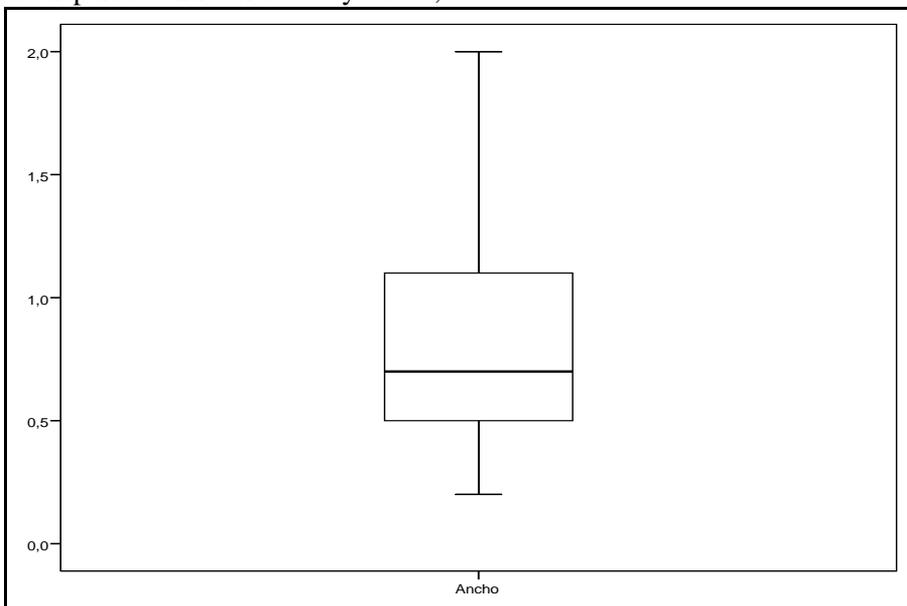


Fig. 15. Boxplots del ancho de las hojas.

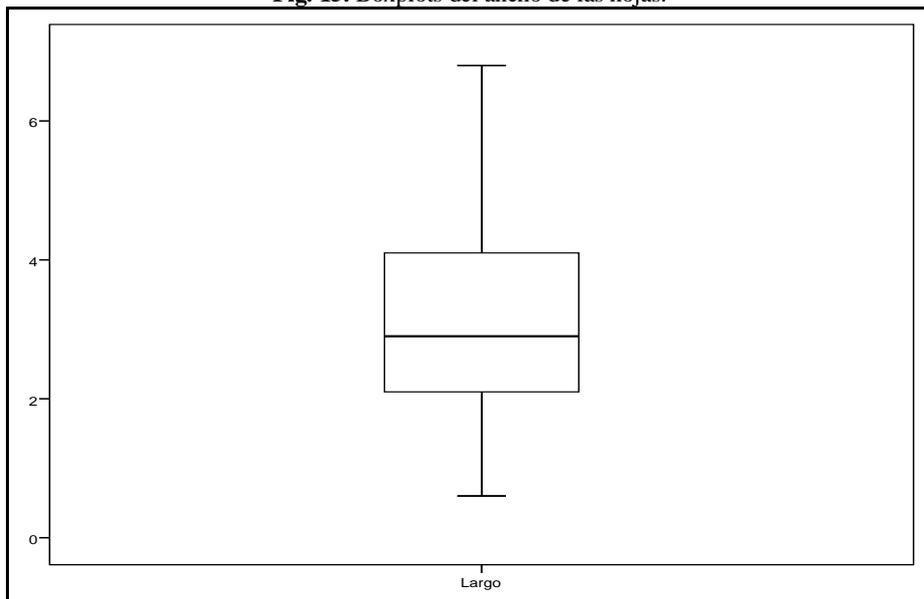


Fig. 16. Boxplots de valores de largo foliar.

CONCLUSION

Los ejemplares utilizados para el estudio, son plantas provenientes de ejemplares colectados en la jurisdicción de Horqueta en el Departamento de Concepción, si bien corresponden a plantas cultivadas, son las más próximas a la forma silvestre, de acuerdo a los caracteres morfológicos encontrados en los especímenes y el origen de las mismas, mencionados por los productores de la localidad de Horqueta, quienes refirieron, que hace aproximadamente 30 años atrás, habían colectado en su forma silvestre en el Cerro Cuatí; pero de acuerdo con los mismos informantes, las formas silvestres actualmente estarían extintos en el sitio indicado.

Teniendo en cuenta, los resultados obtenidos del estudio morfológico así como el micrográfico, se puede concluir que, la caracterización propia del tejido epidérmico, como tipos y localización de pelos o tricomas, tipos y ubicación de estomas, tipo de nervadura y estructura del mesófilo, caracteres anatómicos del tallo y de la raíz, además de la Densidad Estomática; pueden ser utilizados como elemento de apoyo para identificar la autenticidad de hojas de *Stevia*, comercializadas actualmente en el Paraguay,

En cuanto al estudio de la variación del tamaño foliar, se pudo corroborar, que se podría establecer, de acuerdo a los resultados obtenidos, una relación entre los valores de ancho y largo, definiendo patrones que se acercan a los propios de la especie y que permitiría diferenciar el tamaño foliar que se puede encontrar en plantas cultivadas de *Stevia* y que son comercializadas.

AGRADECIMIENTOS:

A las siguientes instituciones y personas: Universidad Nacional de Asunción, a través de la Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica, por el financiamiento de ésta investigación.

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, por las facilidades ofrecidas para el desarrollo del proyecto.

Al Ing. Agr. Porfirio Riquelme, a los señores Faustino Cardozo, Adolfo González y familia, propietarios de viveros y productores de ka'a he'e, por la donación de plantas para la realización de los estudios y el aporte de sus conocimientos tradicionales acerca de la especie.

BIBLIOGRAFIA

- Bertoni, J. 1991. Cultivo del ka'a he'e, *Stevia rebaudiana* Bertoni. MAG, Vol. 30. Asunción-Paraguay. 6p.
- Budel, J; Duarte, M. 2009. Análise morfoanatômica comparativa de duas espécies de carqueja: *Baccharis microcephala* D.C. e *B. trimera* (Less) D.C., Asteraceae. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 45 (1): 75 – 85 (PDF)
- Cabrera, A. L. W.; Holmes & S. MC Daniel. 1996. Compositae III. Flora del Paraguay. Conservatoires et Jardin botaniques de la Ville de Geneve-Missouri Botanical Garden. 25: 302-305.
- Carpano, S. M., Spigazzini, E. D. y Nájera, M. T. 1994. Nueva técnica de eliminación de cutina de órganos foliares. *Rojasiana* 2: 9-12.
- Delbon, N. et al. 2007. Análisis comparativo de los caracteres epidérmicos en *Flourensia campestris* y *F. oolepis* (Asteraceae). Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica, v. 42 (3-4): 245 – 250 (PDF)

- Dematei G. S. De J. & I. S. Moscheta. 2006. Anatomia de raiz caule e folha e identificação de estruturas secretoras de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). Acta Sci. Biol. Sci. Maringá, v. 28, n. 4: 327-334. (PDF)
- Esau, K. 1995. *Anatomía Vegetal*. Ed. Omega, Barcelona.
- Gattuso, S. & al. 2003. Caracteres morfoanatómicos y químicos de *Stevia entriensis* (Eupatorieae-Asteraceae). Bol. Soc. Argent. Bot. 38 (Supl.) 2003. XXIX Jornadas Argentinas de Botánica & XV-Reunión Anual de la Sociedad Botánica de Chile. p. 86-87
- Ianiv, Z. & U. Bachrach. 2005. Handbook of Medicinal Plants. Haworth Press. 349 p. (PDF)
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford: Pergamon Press, v. 2 :782–804. (PDF)
- M.A.G. 1996. Producción de ka'a he'e. Asunción, Paraguay. 34 pp.
- Motic China Group. (2006). Motic Images Plus versión 2.0. Software de computadora para microscopia digital.
- Nie, N. et al. (2000). Statistical Package for the Social Science. Versión 10.5 for Windows. Software de computadora para análisis estadístico. SPSS Inc.
- Oliveira, V. M. de, E. R. Forni-Martins, P. M. Magalhães and M. N. Alves. 2004. Chromosomal and morphological studies of diploid and polyploid cytotypes of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Eupatorieae, Asteraceae). In: Genetics and Molecular Biology, 27, 2, 215-222 . (PDF)
- Pérez, C. (2004). Técnicas de Análisis Multivariante de Datos: Aplicaciones con SPSS. Madrid: Pearson Prentice Hall.
- Ramesh, K., RAMAWAT, N. & V. SING. 2007. Leaf Area Distribution Pattern and Non-Destructive Estimation Methods of Leaf Area for *Stevia rebaudiana* (Bert.)Bertoni. Asian Journal of Plant Sciences 6(7): 1037-1043 (PDF)
- Rossi Monteiro, W., M. de Moraes Castro, S. C. Mazzoni-Viveiros and P. G. Mahlberg 2001. Development and some histochemical aspects of foliar glandular trichomes of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bert. – Asteraceae. En: Rev. bras. Bot. vol.24 no.3 (PDF)
- Salisbury, E.J. (1927). "On the causes and ecological significance of stomatal frequency with special reference to the woodland flora". *Phil. Trans. Roy. Soc. London* 216 B: 1-65.
- Smiljanic, K. B. 2005. Anatomía foliar de especies de Asteraceae., Vicoso-Minas Gerais, Brasil. 79 p. Disertación (Magíster Science). Universidad Federal de Vicoso.(PDF)
- Spegazzini, E. 2007. La micrografía en la identidad de los vegetales- In: Especial IX Simposio Argentino y XII Simposio Latinoamericano de Farmacobotánica Conferencias. Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromáticas. Vol. 6 (5), 165 (PDF)
- Zornig, H. y Weiss, G. (1925). "Beiträge Zur Anatomie des Laubblattes offzineller und pharmäzeutisch gebräuchlicher Compositen-Drogen". *Arch. Pharm., Berl.* 263: 451-470. (PDF)

Steviana, Vol. 2, 2010

Guía para los autores:

Periodicidad:

Steviana, es una publicación anual, en casos de necesidad se publicará 2 números por cada volumen y será bajo la categoría de edición especial.

Envíos de trabajos:

Los trabajos deberán enviarse en formato impreso y digital, en español, a la siguiente dirección:

Herbario FACEN - Departamento de Biología
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción
Dirección Postal: 1039
Campus Universitario, San Lorenzo-Paraguay
e-mail: bbenbert@facen.una.py

Tipos de artículos a ser publicados:

Podrán ser publicados artículos científicos inéditos, correspondientes al área de Botánica, con especial énfasis en plantas útiles. El contenido del artículo científico, es de exclusiva responsabilidad de los autores.

Tamaño:

El tamaño de la Revista es de 18 x 24 cm; borde superior: 2,5 cm; borde inferior: 2 cm; margen izquierdo: 2 cm; margen derecho: 1,5 cm; espacio entre columnas: 0,5 cm

Formato:

El Título deberá estar escrito en Times New Roman 14, en negrita, no más de 25 palabras. Por debajo, deberá estar el nombre completo de los autores, seguido de la dirección de e-mail del primer autor, con letra Times New Roman 10.

El resumen no deberá exceder las 250 palabras, seguido de palabras claves, con letra Arial 9.

Deberá llevar un resumen en español e inglés, al igual que el título y las palabras claves.

La estructura del formato incluirá: Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Conclusión y Bibliografía, Apéndices; con letra Times New Roman 11, normal, espacio simple.

En casos aplicables, el resultado y la discusión pueden ir juntos.

Las Tablas deberán ir enumeradas ordinalmente y nominada en la parte superior de la tabla, con letra tamaño 9.

Las fotografías, mapas y dibujos deberán ser consideradas como Figuras y deberán ir enumeradas ordinalmente en la parte inferior, con letra tamaño 9.

La Bibliografía será ordenada por orden alfabético, espacio simple.

Formas de adquisición:

- a- Por canje e intercambio con instituciones
- b- Por suscripción lo equivalente a 100.000 Gs por cada número

Para canjes e intercambios dirigirse a:

Bonifacia Benítez F.

e-mail: bbenbert@facen.una.py

Herbario FACEN

Dirección Postal: 1039

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UNA

Campus Universitario, San Lorenzo-Paraguay

Steviana, Vol. 2, 2010

Páginas	Contenido
3-11	Estudios preliminares micrográficos e histoquímicos en hojas de <i>Jungia floribunda</i> Less. (Asteraceae), de uso medicinal. <i>Christian Dujak R., Yolanda Lopez, Gloria Delmas, Cecilia Araujo</i>
12-18	Morfoanatomía cualitativa foliar y caulinar de <i>Aloysia gratissima</i> (Gill.& Hook) Troncoso (Poleoí) comercializada como medicinal en el mercado 4 de Asunción, Paraguay. <i>Claudia Pereira S., Fidelina González, Bonifacia Benítez</i>
19-30	Evaluación del potencial citotóxico de <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Arecaceae). <i>Virginia Fernandez, Luciana Sales, Jorge Alfonso, Deidamia Franco, Ana Gomez, Claudia Pereira, Danila López, Francisco Cabañas</i>
31-44	Plantas utilizadas como barbasco por algunas comunidades indígenas del Paraguay <i>Marcelo Dujak M., Pamela Marchi</i>
45-54	Screening fitoquímico preliminar de <i>Chloroleucon tenuiflorum</i> (Benth.) Barneby & J.M. Grimes <i>Miguel Martínez, Claudia Pereira, Fidelina González, Bonifacia Benítez F.</i>
55-67	Morfología y micrografía del ka'a he'e, <i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni) Bertoni, provenientes de cultivares de Concepción, Paraguay. <i>Bonifacia Benítez, Claudia Pereira, Fidelina González, Carlos Molinas, Siemens Bertoni</i>