

Steviana



Se observa un *yrapé*, cedazo elaborado artesanalmente con fibras vegetales. En su interior se encuentran diferentes variedades de avatí (*Zea mays* L.) y kumanda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.



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



Steviana es una publicación anual de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, que cubre todas las líneas de trabajo dentro del área de la Botánica, en especial de plantas útiles. Se publican investigaciones originales (artículos) y revisiones (reviews) sin costo para los autores. Los artículos publicados en *Steviana*, son de interés para especialistas dentro de este campo, cuyos resultados y conclusiones principales son inéditos.

Steviana cuenta con dos versiones, impresa (ISSN 2077-8430) y on line (ISSN 2304-2907) ambas con tirada anual. La revista se encuentra indexada desde el 2012 al Catálogo de Latindex con N° de Folio 21767.

Diseño y diagramación: Claudia Pereira Sühsner

Fotografía de la tapa: Marcelo Dujak

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCION

RECTOR

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

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

DECANO

Prof. Lic. Constantino Nicolás Guefos K., MAE

CUERPO EDITORIAL

Editor

Bonifacia Benítez de Bertoni (FACEN-UNA)

Co-editor

Claudia Pereira Sühsner (FACEN-UNA)

Asistente de edición

Fidelina Gonzalez (FACEN-UNA)

Comité Científico

Pastor Arenas (CEFYBO-CONICET, UBA, Argentina)

Juana de Egea (WCS)

Danilo Fernandez Rios (FACEN-UNA)

María Fátima Mereles H. (FPTI-PY)

Lidia Perez de Molas (FCA-UNA)

María Vera (FACEN-UNA)

Christian Vogt (FACEN-UNA)

Gloria Yaluff (FACEN-UNA)

Revisión de escrito en Inglés

Nidia Beatriz Benítez Candia (FACEN-UNA)

La Facultad de Ciencias Exactas y Naturales agradece a los investigadores que han dedicado su tiempo y esfuerzo en el arbitraje de los artículos presentados en este volumen

María Silvia Ferrucci (UNNE-CONICET, Argentina)

Gabriela Levitus (ArgenBio, Argentina)

Moisés Pescador Garriel (FCAA-USAL, España)

Larissa Trierveiler Pereira

Christian Vogt (FACEN-UNA, Paraguay)

Gloria Yaluff (FACEN-UNA, Paraguay)

Revista *Steviana*: Indexada al Catálogo de Latindex, Nº de Folio 21767

DIRECCIÓN OFICIAL

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UNA

Teléfono-fax: (595-21) 585 600

Dirección Postal: 1039

Campus Universitario, San Lorenzo-Paraguay

Página web: www.facen.una.py

CONTENIDO POR SECCIONES

Biotecnología

- 3 – 24 Evaluación de inocuidad de alimentos y forrajes derivados de cultivos obtenidos por ingeniería genética: utilización de la formulación de problemas
Fernández Ríos, D.; Benítez Candia, N.; Ibarra Salomón, M. J.; Oviedo de Cristaldo, R.; Rubinstein, C.; Vición, C.; Garcia-Alonso, M.

Etnobotánica

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

Fitoquímica

- 48 - 56 Actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler por el método de captura del radical libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH●)
Martínez, M.; Mancuello, C.; Ramond, F.; Bednarczyk de Oliveira, V.

Flora y Vegetación

- 57 - 73 Diversidad y homogeneidad de especies arbóreas y arbustivas utilizadas como forrajeras alternativas en área de influencia del Arroyo Caañabé, Departamento Paraguairí-Paraguay
Benítez, B.; Bertoni, S.

Micología

- 74 – 78 *Cyathus poeppigii* (Agaricales, Basidiomycetes): nuevo registro para Paraguay
Campi, M.; Maubet, Y.
- 79 – 88 Especies de *Geastrum* (Geastraceae, Basidiomycota) nuevos registros para Paraguay
Campi, M.; Maubet, Y.
- 89 – 95 Análisis de hongos filamentosos presentes en plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya
Reyes, M.; Moura Mendes Arrúa, J.; Casal, C. C.; Fernández Ríos, D.; Martínez, L.; Cabrera, M.; Arrúa Alvarenga, P. D.; Arrua Alvarenga, A. A.

Morfoanatomía Vegetal

- 96 – 101 Morfo-anatomía foliar y caulinar de *Passiflora misera* Kunth (Passifloraceae)
Pereira Sühsner, C.

Toxicología

- 102 – 115 Evaluación ecotoxicológica de arroyos de la reserva San Rafael y su zona de amortiguamiento mediante bioensayos con *Daphnia magna* y *Lactuca sativa*
López Arias, T. R.; Esquivel Mattos, A.; Peris, S.

Evaluación de inocuidad de alimentos y forrajes derivados de cultivos obtenidos por ingeniería genética: utilización de la formulación de problemas

Fernández Rios, D.¹; Benítez Candia, N.¹; Ibarra Salomón, M. J.¹; Oviedo de Cristaldo, R.²; Rubinstein, C.³; Vicién, C.⁴; Garcia-Alonso, M.⁵

¹Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN), Universidad Nacional de Asunción (UNA). San Lorenzo, Paraguay

²Dirección General Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (DGCEMIT), Universidad Nacional de Asunción (UNA). San Lorenzo, Paraguay

³International Life Sciences Institute-Argentina (ILSI-Argentina). Buenos Aires. Argentina

⁴Center for Environmental Risk Assessment (CERA)

⁵Estel Consult Ltd, 5 Hillside drive, Binfield, Bracknell RG424HG, United Kingdom

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

Evaluación de inocuidad de alimentos y forrajes derivados de cultivos obtenidos por ingeniería genética: utilización de la formulación de problemas. Todos los organismos obtenidos por ingeniería genética con fines de uso como alimentos y forraje deben ser evaluados en cuanto a su inocuidad para seres humanos y otros animales. Los datos y la metodología utilizados para realizar estas evaluaciones se han desarrollado a lo largo de muchos años. Organizaciones internacionales tales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS), y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) han estado facilitando la armonización de las metodologías de evaluación de inocuidad de alimentos y forraje. La Comisión del Codex Alimentarius, establecida por la FAO y la OMS en 1963, ha desarrollado estándares alimentarios internacionales armonizados, directrices y códigos de práctica, y ha promovido la coordinación de todos los trabajos sobre estándares de alimentos emprendidos por las organizaciones internacionales gubernamentales y no gubernamentales. Las evaluaciones realizadas hoy en día para determinar la inocuidad de los cultivos obtenidos por ingeniería genética (GE) utilizados en alimentos y forraje siguen estos estándares. Estas evaluaciones se realizan para apoyar a las autoridades regulatorias nacionales en la toma de decisiones sobre si aprobar o no la utilización de un determinado cultivo GE en su país. Así, las evaluaciones de inocuidad deben cumplir con cada requerimiento delineado en el marco regulatorio del país y proveer información científica sólida y claramente detallada para facilitar este proceso de toma de decisiones. En otras palabras, la evaluación de inocuidad se debe realizar de manera que facilite la toma de decisiones, cumpliendo con las normas internacionales y locales y con metodologías científicas robustas. La utilización de la metodología de formulación de problemas en las evaluaciones provee una herramienta para asegurar que las evaluaciones provean la información necesaria para la toma de decisiones. La formulación de problemas tiene en cuenta los objetivos nacionales de protección y los requerimientos regulatorios clave, e impulsa la compilación de información relevante para la evaluación. Dada la riqueza de información en métodos de evaluación y la existencia de documentos de consenso internacionalmente aceptados, el objetivo de este artículo de revisión no es proveer una guía completa sobre cómo realizar evaluaciones de inocuidad de alimentos y forrajes, sino más bien demostrar cómo la formulación de problemas puede utilizarse en estas evaluaciones para facilitar la toma de decisiones.

Palabras clave: agrobiotecnología, biotecnología moderna, bioseguridad

Steviana, Vol. 7, 2015, pp. 3 – 24.

Original recibido el 23 de junio de 2015.

Aceptado el 10 de septiembre de 2015.

Safety Assessment of Food and Feed Derived from GM Crops: Using Problem Formulation to Ensure “Fit for Purpose” Risk Assessments. All genetically engineered organisms for the purposes of food and feed must be assessed for their safety to humans and other animals. The data and methodology used to perform these assessments have been developed over many years. International organizations such as the Food and Agriculture Organization (FAO), the World Health Organization (WHO) and the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) have been facilitating the harmonization of food and feed safety assessment methodologies. The Codex Alimentarius Commission, established by FAO and WHO in 1963, has developed harmonized international food standards, guidelines and codes of practice, and has promoted the coordination of all work on food standards undertaken by international governmental and non-governmental organizations. The assessments conducted today to determine the safety of GE crops used in food and feed follow these standards. These assessments are conducted to support the national regulatory authorities in making decisions on whether to approve the use of a particular GE crop in their country. Thus, safety assessments must meet every requirement outlined in the regulatory framework of the country and provide solid and clearly detailed scientific information to facilitate the decision-making process. In other words, the safety assessment should be performed so as to facilitate decision making, complying with international and local standards and with robust scientific methodologies. Using the problem formulation methodology in the assessments provides a tool to ensure that they are fit for purpose. Problem formulation takes into account the national protection goals and key regulatory requirements and promotes the compilation of information relevant to the assessment. Given the wealth of information on assessment methods and the existence of internationally accepted consensus documents, the aim of this review is not to provide a complete guide on how to conduct food and feed safety assessments, but rather to show how problem formulation can be used in these assessments to facilitate decision-making.

Keywords: agricultural biotechnology, modern biotechnology, biosafety

INTRODUCCIÓN

Cuando un cultivo convencional es modificado a través de técnicas de ingeniería genética existe una preocupación de que el cultivo resultante pueda inducir daños a los humanos u otros animales si sus productos se consumen como alimentos o forraje. Así, el uso de cultivos obtenidos por ingeniería genética (GE)¹ como alimentos y forrajes está estrictamente regulado y la mayor parte de las autoridades alrededor del mundo solicitan una evaluación de inocuidad exhaustiva. El objetivo principal de esta evaluación es proveer información

relevante para permitir que las autoridades regulatorias tomen decisiones informadas con respecto a su uso futuro. Por lo tanto, es necesario que estas evaluaciones tengan en cuenta los requerimientos de datos y los objetivos de protección establecidos dentro del marco regulatorio relevante.

El proceso y la metodología a seguir en evaluaciones de inocuidad de cultivos GE han sido desarrollados a lo largo de muchos años. Luego de mucha investigación se han desarrollado métodos genéricos a seguir, que se han construido sobre la experiencia de evaluaciones, aprobaciones y comercializaciones previas de cultivos GE a lo largo de más de veinte años. Organizaciones internacionales tales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Organización Mundial de la Salud (WHO), y la

¹ En la revisión original se utiliza el término “*Genetically Engineered*”, para el cual no existe equivalente castellano de precisión suficiente, por lo que optamos por utilizar las siglas “GE” a fin de significar que un organismo fue obtenido a través ingeniería genética.

Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) han estado facilitando la armonización de las metodologías de evaluación de riesgo de alimentos y forraje. La Comisión del Codex Alimentarius, establecida por la FAO y la OMS en 1963, ha desarrollado estándares alimentarios internacionales armonizados, directrices y códigos de práctica, y ha promovido la coordinación de todos los trabajos sobre estándares de alimentos emprendidos por las organizaciones internacionales gubernamentales y no gubernamentales. La utilización de esta guía y la aplicación de la metodología de la formulación de problemas, una metodología a menudo utilizada en evaluaciones de riesgo ambiental, provee una forma útil de colectar y organizar información relevante para la evaluación.

La formulación de problemas tiene en cuenta los objetivos de protección y los requerimientos regulatorios nacionales para guiar la recopilación de información relevante para la combinación cultivo/característica específica bajo evaluación. La etapa de la formulación de problemas es también en la cual se realiza una caracterización inicial del posible riesgo, utilizando información disponible, para establecer si ésta es suficiente para caracterizar el riesgo o si se debe generar información adicional. Si se concluye esto último, la formulación de problemas provee una buena metodología para desarrollar un plan de análisis basado en objetivos específicos de evaluación a partir de los cuales se puedan confirmar o rechazar las hipótesis de riesgo planteadas. Esto incrementa la probabilidad de que la evaluación de inocuidad sea relevante para la toma de decisiones. Este proceso es

ampliamente utilizado en evaluaciones de riesgo y ahora es parte de la directriz provista por algunas autoridades regulatorias. Este artículo de revisión aporta un resumen acerca de cómo la formulación de problemas puede utilizarse en la evaluación de inocuidad alimentaria de cultivos GE para facilitar la toma de decisiones regulatorias.

CONCEPTOS CLAVE

Del mismo modo que para los alimentos convencionales, la inocuidad de los alimentos y el forraje GE no puede determinarse mediante un solo estudio (OECD 1993b). Los alimentos completos son complejas mezclas de numerosos compuestos, a menudo caracterizadas por amplias variaciones en composición y valores nutricionales. A menudo los factores ambientales y agronómicos influyen en la composición de los componentes en variedades similares del mismo cultivo convencional. De esta manera, la evaluación de inocuidad de los alimentos usualmente se basa en componentes específicos (Codex Alimentarius 2003b).

Se acepta ampliamente que la mejor estrategia para iniciar la evaluación de seguridad de alimentos y forraje GE es una estrategia comparativa (Codex Alimentarius 2003a; Codex Alimentarius 2003b; Hammond 2008; Kleter, Kok, y others 2010; Kok y Kuiper 2003; König *et al.* 2004; OECD 1993b; Schauzu 2000), en donde el cultivo GE es comparado con su contraparte convencional para determinar potenciales cambios en la composición de componentes clave. Este proceso se conoce como la evaluación de “equivalencia sustancial” (Schauzu 2000) y ha sido adoptado por organismos regulatorios

líderes en evaluación de alimentos y regulación en todo el mundo. De acuerdo con este concepto, si se muestra que un nuevo alimento o forraje derivado de un cultivo GE es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional, se considera tan seguro como éste y la evaluación entonces se centra en la seguridad de las características introducidas (Codex Alimentarius 2003b).

EVALUACIÓN COMPARATIVA

Como se discutió en la sección anterior, los resultados de un solo estudio no pueden establecer en forma conclusiva si un alimento o forraje derivado de un cultivo GE presenta un riesgo bajo para la salud. Por lo tanto la estrategia propuesta por expertos internacionales en el área es la realización de una evaluación comparativa (Codex Alimentarius 2003a; OECD 1993b). La evaluación comparativa permite la identificación de cualquier diferencia entre cualquier cultivo GE y sus contrapartes convencionales que puedan haber surgido debido a la modificación genética. El proceso sigue una estrategia de “peso de la evidencia”, en donde se utilizan numerosas fuentes de información para identificar estas potenciales diferencias y sus implicancias para la seguridad del alimento o el forraje (Fig. 1) (Cockburn 2002; Herman, Chassy, y Parrott 2009; Herman y Price 2013; König *et al.* 2004; Kuntz y Ricroch 2012; Parrott *et al.* 2010; Ricroch 2013).

Es importante notar que a veces se detectan diferencias entre la planta GE y su contraparte convencional. Sin embargo, una diferencia no necesariamente tendrá un efecto adverso. Una vez detectadas las diferencias se evalúa su relevancia biológica y la probabilidad de que

conduzcan a un efecto adverso en la salud. Si las diferencias son biológicamente relevantes y pueden causar efectos adversos, entonces la evaluación de riesgo se enfoca en el riesgo asociado con estas diferencias (García-Alonso 2010).

El paquete regulatorio para un nuevo cultivo GE usualmente comprende datos sobre caracterización molecular, análisis de composición y caracterización agronómica ya que estos son datos requeridos en la mayoría de los marcos regulatorios. Por lo tanto, estos datos pueden ser utilizados durante la formulación de problemas.

Para los productos GE que ya se han comercializado en un país y están siendo evaluados para aprobación en otro, la formulación de problemas puede ayudar a establecer si los datos ya disponibles para la evaluación comparativa son suficientes o si se deben generar más datos. Si la evaluación de inocuidad para alimentos y forraje anterior no reveló ninguna preocupación y estableció que el cultivo GE era tan seguro para el consumo como sus contrapartes convencionales, tal evaluación puede utilizarse en otras geografías y no es necesariamente obligatoria la generación de más datos. Ocurren excepciones cuando existen requerimientos de datos específicos establecidos en el marco regulatorio nacional que no se satisfacen completamente, o en donde existen aspectos específicos del hábito de consumo de alimentos o forraje en el país importador que deben tenerse en cuenta.

Para la mayoría de los cultivos GE las únicas diferencias identificadas son las esperadas debido al efecto deseado de la modificación, que son llamadas diferencias “intencionales”. Sin embargo, existe una

preocupación de que el proceso de transformación haya podido llevar a algunas diferencias “no intencionales”, tal vez debido a la interrupción de un gen o una ruta metabólica endógena. Tales diferencias no intencionales no son exclusivas a los cultivos GE y también pueden ocurrir en el mejoramiento convencional de cultivos.

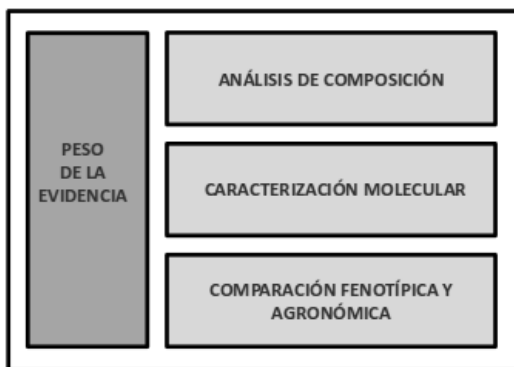


Fig. 1: La estrategia del peso de la evidencia utilizada en las evaluaciones comparativas tiene en cuenta datos de caracterización molecular, análisis de composición y comparaciones fenotípicas y agronómicas

Caracterización molecular

El uso de la caracterización molecular para las evaluaciones de riesgo ambiental o de alimentos y forraje ha sido bien descrito en un documento de consenso publicado por la OECD (OECD, 2010). Los datos de caracterización molecular proveen información que puede servir para la evaluación de riesgo de cultivos GE.

Aunque proveen conocimiento a nivel molecular del DNA insertado, el sitio de inserción y el material expresado, y puede dar información sobre los efectos intencionales y no intencionales, no es el medio principal para detectar tales efectos indeseados (Macdonald 2012).

La caracterización molecular realizada para cultivos GE incluye un análisis de la

secuencia del gen para asegurar que no hayan ocurrido cambios en ella durante el proceso de transformación. Se realiza también un análisis de las regiones flanqueantes del gen para establecer si la inserción ha resultado en alguna interrupción de genes endógenos. También incluye un análisis de marcos abiertos de lectura (open reading frames, ORFs)² para determinar si otras proteínas además de las intencionales podrían ser producidas por la planta GE. Si se produjeran nuevas proteínas (aparte de la[s] intencional[es]), la seguridad de estas proteínas no intencionales debe ser evaluada (OECD 2010).

En resumen, la caracterización molecular indica si la modificación genética resultó como fue planeada, y si ocurrió alguna interrupción a nivel molecular luego de la transformación. Esta información es útil como un indicador de potenciales problemas; sin embargo la evaluación de riesgo depende más fuertemente de otras fuentes de información basadas en las características fenotípicas reales de la planta (Macdonald 2012).

Análisis de la composición

Los análisis de composición constituyen el núcleo de la evaluación de riesgo de alimentos y forraje GE (Codex Alimentarius 2003b). En estos estudios la composición de un cultivo GE se compara con la de su contraparte convencional que tiene un historial de consumo seguro. El objetivo es establecer si el cultivo GE es “sustancialmente equivalente” al cultivo convencional y si las únicas diferencias son aquellas planeadas en la modificación

² También llamados TRFs (*theoretical reading frames*)

genética (Schauzu 2000). Si este es el caso, la evaluación de seguridad se enfoca en las propiedades de los productos génicos expresados por los transgenes (Codex Alimentarius 2003b; Codex Alimentarius 2003a; OECD 1993a; OECD 1993b). Si se encuentra que las diferencias son consistentes y biológicamente relevantes, y tienen potencial para causar daño a humanos u otros animales, entonces se incluyen en la evaluación de riesgo para mayor análisis.

Con el fin de generar los datos para los estudios de análisis de composición, se conducen ensayos de campo en un rango de localidades representativas de distintos agroecosistemas en donde se podría utilizar el cultivo GE. Se colectan muestras de tejidos que podrían ser consumidos en

alimentos o forraje para el análisis de distintos componentes. El número de ensayos puede variar de región a región, pero el objetivo de realizarlos en lugares distintos es investigar si existen factores ambientales que podrían revelar diferencias entre la composición del cultivo GE y la contraparte convencional (George *et al.* 2004; Herman, Chassy, y Parrott 2009; Ricroch 2013). Existe una gran cantidad de literatura científica y muchas solicitudes de autorización evaluadas por autoridades regulatorias que demuestran la equivalencia de la composición de numerosos cultivos GE testeados en distintas áreas geográficas (Harrigan *et al.* 2010; Herman y Price 2013; Ricroch 2013).

Tabla 1. Lista de documentos de consenso de la OECD disponibles sobre las consideraciones de la composición y la biología de los cultivos. Disponible en: www.oecd.org/env/ehs/biotrack/consensusdocumentsfortheworkonthesafetyofnovelfoodsandfeedsplants.htm

Cultivo	Consideraciones de composición	Biología
Alfalfa	√	
Bananas y plátanos		√
Cebada	√	
Mandioca	√	
Chile, pimientos picantes y dulces		√
Algodón	√	√
Cucurbitas		√
Sorgo	√	
Maíz	√	√
Colza/Canola	√	√

Papaya	√	√
Papa	√	√
Arroz	√	√
Soja	√	√
Remolacha azucarera	√	√
Caña de azúcar	√	
Girasol	√	√
Batata	√	
Tomate	√	
Trigo	√	√

Los estudios a menudo reportan que se observan diferencias estadísticamente significativas en la composición entre distintas variedades del mismo cultivo, pero no entre el cultivo GE y su comparador (Harrigan *et al.* 2010; Herman, Chassy, y Parrott 2009; Herman y Price 2013; Reynolds *et al.* 2005). Una vez que se han realizado los ensayos en diversos ambientes, la incertidumbre sobre las diferencias debidas a factores ambientales está mejor definida y generalmente se reduce. Cualquier instrucción regulatoria de realizar ensayos de campo para generar más información debe ser considerada cuidadosamente, ya que podría constituir una duplicación de trabajo y podría no ayudar a reducir la incertidumbre.

Los componentes analizados en los tejidos vegetales se eligen utilizando conocimiento experto, mucho del cual ha sido cotejado y publicado por la OECD en documentos de consenso sobre las

características de composición para el cultivo (Tabla 1).

Estos documentos de consenso que listan componentes clave para distintos cultivos convencionales son una fuente muy valiosa de información, ya que proveen una técnica armonizada en cuanto a los componentes evaluados. Esto contribuye al conocimiento sobre los niveles de componentes que han sido utilizados de manera segura como alimento y forraje (historial de uso seguro), permitiendo así la construcción de bases de datos que proveen información sobre los rangos seguros de cada componente para estos cultivos (ILSI 2010). Para el maíz, por ejemplo (Cuadro 1), se recomiendan muestras específicas de grano y forraje para la recolección (OECD 2002), y representan componentes de valor nutricional o indicadores de rutas metabólicas que son importantes para la evaluación de seguridad. En el grano de maíz, entre 60 y 70 componentes son analizados y comparados estadísticamente

(Herman y Price 2013; OECD 2002; Reynolds *et al.* 2005). Esto representa un gran número de análisis y comparaciones.

CUADRO 1. EJEMPLO DEL MAÍZ

Considere un estudio de análisis de composición para una variedad GE de maíz en donde se realizaron cuatro ensayos de campo. En cada ensayo, se sembraron bloques con la planta GE y el comparador. Los bloques fueron replicados cuatro veces y distribuidos al azar. Si se colectó un tipo de tejido, por ejemplo el grano, se analizaron por lo menos 60 componentes por muestra. Esto significa que existe un total de 32 muestras (4 ensayos, 2 bloques, 4 repeticiones, 1 tejido), para las cuales se analizan 60 componentes dando un total de 3840 análisis. Estos datos son entonces analizados estadísticamente para establecer si se detectan diferencias en niveles de componentes entre los distintos bloques y entre localizaciones geográficas.

En algunos estudios, también se incluyen variedades convencionales comerciales del cultivo como referencia, incrementando el número de bloques y por ende el número de análisis y comparaciones.

Dado el gran número de comparaciones hechas, no es raro detectar algunas diferencias estadísticamente significativas aleatorias. Se consideran relevantes diferencias en un componente que son consistentes entre localizaciones geográficas y tienen una tendencia común (siempre mayores o menores en alguno de los bloques), y por lo tanto su potencial impacto para la salud es evaluado en mayor profundidad. Los niveles del componente encontrado en la planta GE se comparan con la variabilidad normal en las variedades comerciales del cultivo (Codex Alimentarius 2003a; Herman y Price 2013). El rango de variabilidad encontrado para componentes clave en muchos cultivos puede encontrarse en bases de

datos *online*, como la base de datos del ILSI (ILSI 2010). Si las diferencias observadas para el componente en la planta GE caen dentro de los rangos considerados seguros en las variedades comerciales, puede concluirse que el cultivo GE será tan seguro como las variedades convencionales del cultivo aparte de la(s) característica(s) introducida (s), la cual es entonces evaluada (Codex Alimentarius 2003a). Si se descubre que las diferencias caen fuera de los rangos, se evalúan la relevancia biológica y posibles implicancias para la salud durante la evaluación de riesgo (García-Alonso 2010).

Comparaciones agronómicas y fenotípicas

La mayoría de los paquetes regulatorios contienen estudios enfocados a comparar las características fenotípicas y agronómicas de la planta GE con sus contrapartes convencionales. Estos estudios proveen información útil para evaluaciones de riesgo ambiental, ya que permiten establecer si la modificación genética ha resultado en cambios en alguna característica fenotípica o agronómica que pudiera causar daño ambiental. Por ejemplo, los cambios en las características reproductivas que estén ligados a un potencial de convertir a tales cultivos en malezas son evaluados para estimar si la planta GE podría ser más persistente o invasiva que las contrapartes convencionales. Sin embargo, estos estudios también utilizan la evaluación de seguridad comparativa como un componente adicional del abordaje del peso de la evidencia para identificar diferencias no deseadas entre el cultivo GE y las contrapartes convencionales.

En estos estudios la planta GE es cultivada junto a la contraparte convencional en varios ensayos de campo conducidos en una variedad de sitios representativos de agroecosistemas en donde el cultivo GE podría ser utilizado. Los parámetros medidos se derivan de la experiencia de los fitomejoradores y cubren parámetros tanto morfológicos como fisiológicos. Estos parámetros se seleccionan específicamente de manera que sean sensibles y representativos de las características biológicas clave que determinan la conducta agronómica del cultivo (García-Alonso 2010; Gray 2012; Macdonald 2012).

Cualquier diferencia consistente identificada es evaluada en cuanto a su relevancia biológica y sus posibles implicancias de seguridad, y se toman como indicadores de manifestaciones de potenciales efectos no intencionales de la modificación genética. Como con los análisis de composición, a veces existen diferencias entre la planta GE y sus contrapartes convencionales; cuando son identificadas, estas diferencias son evaluadas en cuanto a su relevancia y potencial para causar daño. Sin embargo, para la mayoría de los cultivos GE que ingresan al proceso regulatorio, los grandes cambios fenotípicos no intencionales en la planta que podrían causar efectos adversos son muy poco probables, ya que los desarrolladores realizan numerosos

estudios de caracterización vegetal durante la selección y el desarrollo del evento; y los eventos con fenotipos no deseados identificados son descartados rápidamente (Gray 2012).

Efectos no intencionales de la modificación genética

Una de las preocupaciones sobre los cultivos GE es que la modificación genética pueda haber resultado en cambios no intencionales en el cultivo que puedan causar algún efecto sobre el ambiente o la salud. La evaluación comparativa provee un abordaje de peso de la evidencia que permite la identificación de diferencias entre la planta GE y sus comparadores (Fig. 2). Para la mayoría de los cultivos GE, las únicas diferencias identificadas son las esperadas debido al efecto deseado de la modificación (diferencias intencionales). En otros casos, es posible la identificación de otras diferencias, por ejemplo en la composición o en las características agronómicas (diferencias no intencionales). Una diferencia no constituye necesariamente una indicación de efectos adversos, por lo tanto cualquier diferencia observada, sea intencional o no, es evaluada primero en cuanto a su relevancia biológica y potencial para causar daño. Si se identifican tales diferencias, éstas son evaluadas, independientemente de que sean intencionales o no (García-Alonso 2010).

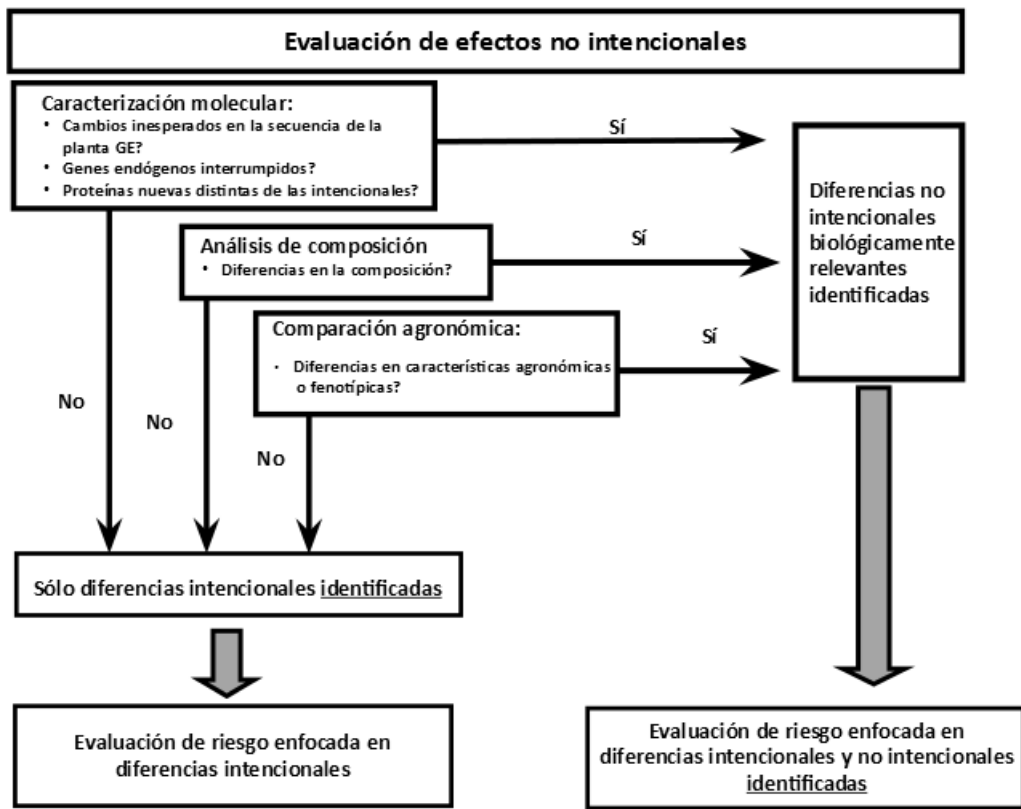


Fig. 2: El abordaje de peso de la evidencia utilizado en las evaluaciones comparativas facilita la identificación de cambios no intencionales en la planta GE que podrían tener que evaluarse en la evaluación de riesgo

EVALUACIÓN DE ALERGENICIDAD

Un aspecto clave de la evaluación de inocuidad de alimentos y forrajes es evaluar si la modificación genética ha resultado en la introducción de un gen que codifique una proteína alergénica importante en un cultivo alimenticio que previamente no la producía. Algunos cultivos alimenticios ampliamente consumidos contienen alérgenos conocidos que resultan en alergias alimentarias por ejemplo las nueces (Taylor y Hefle 2002). Entonces, la evaluación también considera si la modificación genética pudo haber incrementado los niveles de alérgenos endógenos en el cultivo GE.

En evaluaciones de alergenicidad, la formulación del problema puede aplicarse para enfocar la evaluación en las preguntas clave y permitir la recolección y organización de la información de manera lógica y estructurada. Aquí la evaluación comparativa se utiliza para establecer el enfoque de la evaluación. Virtualmente todos los alérgenos alimentarios conocidos son proteínas, por lo tanto el enfoque de la evaluación de alergenicidad para cultivos GE es evaluar el potencial alergénico de las nuevas proteínas producidas por el cultivo. En cuanto a la alergenicidad, si se ha establecido la equivalencia sustancial y las únicas proteínas nuevas producidas son

las intencionales, la evaluación de alergenicidad se enfoca en esas proteínas. Si se identifican nuevas proteínas no intencionales, también se evalúa su alergenicidad potencial. Además, si se sabe que el cultivo convencional contiene alérgenos, se realiza una evaluación para establecer si la modificación genética ha causado cambios en los niveles de esos alérgenos endógenos.

Reconociendo que no existen pruebas únicas definitivas, se utiliza un abordaje de **peso de la evidencia** para la alergenicidad con varias fuentes de información. El Codex Alimentarius provee una guía (Codex Alimentarius 2003a) sobre los tipos de información y el proceso a seguir para evaluar la alergenicidad de los cultivos GE. El primer paso en este abordaje consiste en la recolección de información disponible sobre las proteínas en evaluación:

- Fuente donante - conocer la fuente de los genes utilizados en la modificación genética provee información sobre si éstos provinieron de una fuente alergénica y por lo tanto si tienen potencial de alergenicidad.

- Secuencia de la proteína - comparar la secuencia de la proteína derivada del transgén con la secuencia de las proteínas que son alérgenos conocidos provee una indicación de si puede ocurrir una sensibilización cruzada. Se han definido criterios específicos basados en el porcentaje de homología entre las secuencias (Codex Alimentarius 2003a; Goodman *et al.* 2008), que pueden ayudar a decidir si el grado de similitud es significativo y si es necesario añadir pasos a la evaluación.

- Susceptibilidad a la digestión proteolítica - algunos alérgenos conocidos son resistentes a la degradación en presencia de pepsina, por lo tanto el grado de tal resistencia se utiliza en la evaluación como indicador de alergenicidad potencial. Sin embargo, es importante notar que no todos los alérgenos son resistentes a la degradación en presencia de pepsina y que no todas las proteínas resistentes a tal degradación son alérgenos.

- Susceptibilidad a la degradación térmica - algunos alérgenos permanecen estables en el calor y pueden sobrevivir procedimientos de cocción.

- Prevalencia en alimentos - muchas proteínas alergénicas son proteínas de almacenamiento expresadas en semillas como constituyente proteico mayoritario en cultivos alimentarios. Los niveles de expresión de las proteínas nuevas en el producto comercial son considerados en este contexto para determinar su contribución al perfil proteico total del alimento.

- Historial de exposición segura - revisión de la presencia del organismo donador de la proteína nueva, y de proteínas homólogas a la proteína nueva en la cadena alimentaria. Es poco probable que una proteína nueva ya conocida como alimento seguro y como derivada de un organismo seguro presente un riesgo inesperado de alergia.

El objetivo principal de este abordaje es evaluar la secuencia de aminoácidos y otras características biofísicas de la proteína para identificar similitudes significativas con alérgenos conocidos. Si

la proteína no proviene de un donante alérgico, no tiene homología a alérgenos conocidos, no es resistente a la pepsina y no es resistente a la degradación térmica, se puede concluir que es poco probable que sea alérgica (Goodman *et al.* 2008).

Si la proteína se origina de una fuente conocida como alérgica, o tiene una homología con un alérgeno conocido en su secuencia, entonces la evaluación continua. Se sigue un abordaje caso-por-caso para diseñar un plan de análisis apropiado (Cuadro 2).

CUADRO 2. EJEMPLO

Considere un maíz GE que produzca una nueva proteína. La alergenicidad de la proteína ha sido investigada. Se ha detectado un nivel significativo de homología entre la secuencia de la proteína y la de un alérgeno conocido (ej. >70% en toda la longitud de la proteína). En este caso, existe un riesgo de reactividad cruzada entre las proteínas, y los humanos sensibles al alérgeno conocido podrían tener reacciones alérgicas a la proteína producida por el maíz GE. Siguiendo la metodología de la formulación de problemas, se tendría que establecer un plan de análisis en cuyo marco se tendrían que realizar estudios de reactividad cruzada cuidadosamente diseñados.

En resumen, la utilización de la formulación de problemas provee una forma lógica de recolectar información relevante para realizar una evaluación de alergenicidad y una caracterización inicial del riesgo para establecer si se necesitan más datos. Si este es el caso, la formulación de problemas puede utilizarse para diseñar el plan de análisis más apropiado para completar la evaluación y así tener conclusiones sobre la seguridad de los alimentos y el forraje.

UTILIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE FORMULACIÓN DE PROBLEMAS EN EVALUACIONES DE INOCUIDAD DE ALIMENTOS Y FORRAJE

Formulación de problemas

La formulación de problemas es un proceso que consiste en la recolección y consideración de todos los datos disponibles sobre el cultivo GE para permitir la formulación de hipótesis de riesgo medibles y el diseño de un plan para probarlas (Raybould 2006; Wolt *et al.* 2010). En otras palabras, la formulación de problemas es una herramienta para la identificación de preguntas relevantes para la evaluación de riesgo y la recolección de la información relevante para responderlas (Gray 2012).

La formulación de problemas considera los objetivos de protección relevantes y los requerimientos de datos fijados en el marco regulatorio, enfocando así la evaluación de riesgo en preguntas claves y asegurando que facilite la toma de decisiones (Fig. 3). La formulación de problemas también incluye una caracterización inicial de riesgo, realizada con los datos existentes, para establecer si los datos recolectados son suficientes para caracterizar el riesgo o si se requiere información adicional. Donde se identifica una necesidad de generar más datos, se puede desarrollar un plan de análisis para satisfacer las necesidades especificadas. Si no se requiere información adicional, la evaluación de riesgo puede detenerse en este paso (Cuadro 3).

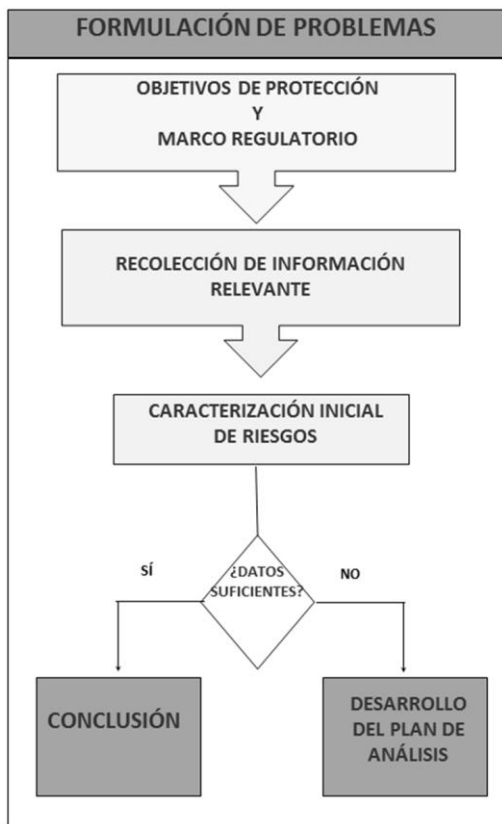


Fig. 3: Componentes de la formulación de problemas

Considere un maíz GE que produce una nueva proteína para el control de plagas. El objetivo de la evaluación de seguridad es establecer que el consumo del maíz GE será tan seguro como el maíz convencional. La evaluación comparativa concluyó que el maíz GE y su contraparte convencional son sustancialmente equivalentes y sólo difieren en la presencia de esa proteína. Dos escenarios pueden surgir:

CUADRO 3. EJEMPLO

1. La proteína es bien conocida y ha sido introducida previamente en otros cultivos GE ya comercializados o utilizada en biopesticidas. Entonces se encuentra disponible información sobre

la seguridad de la proteína, y puede utilizarse para realizar una caracterización inicial de riesgo utilizando datos de expresión en el cultivo GE en evaluación para realizar una evaluación de exposición. Si el riesgo es aceptable, la caracterización de riesgo puede considerarse completa en este paso (conclusión).

2. La proteína es nueva y no existen datos de seguridad ni datos sobre exposición previa. En este caso, es poco probable que el riesgo pueda caracterizarse completamente en este paso. Se puede diseñar un plan de análisis para determinar qué estudios son necesarios para la evaluación de riesgo.

Objetivos de protección y marcos regulatorios

Cuando se realiza una evaluación de riesgo, es esencial tener una buena comprensión de los objetivos establecidos en la política de protección local. En general, para la evaluación de inocuidad de alimentos y forraje, la protección de la salud es un objetivo de protección universal. Existe una tendencia a formular los objetivos de las políticas de protección en términos amplios y cubriendo varios aspectos distintos (Evans, Wood, y Miller 2006), por ejemplo “Protección de la salud humana”. Es necesario que estos objetivos de políticas de protección se traduzcan en objetivos operativos de protección que puedan utilizarse en la evaluación, de manera que puedan formularse parámetros de evaluación y las hipótesis de riesgo (Fig. 4). Por ejemplo, un objetivo operativo de protección podría ser “El consumo de alimentos o forraje GE no debe causar efectos adversos en humanos u otros animales”. Este tipo de traducción operacional enfoca la evaluación de riesgo en lo que se debe proteger (humanos y otros animales), de qué se lo debe proteger (el alimento o forraje GE), y en qué situación (cuando el alimento o forraje es consumido). Se elaboran así más

parámetros de evaluación, expresando explícitamente el valor ambiental a ser protegido, especificando la entidad ecológica que representa el área de protección (humanos u otros animales), la unidad (individuos o poblaciones), el atributo a ser protegido (salud), la magnitud (ausencia de efectos alérgicos o tóxicos), y la escala temporal y espacial (en un país particular, luego del consumo de alimentos o forraje GE) y el grado de certeza (alta/media/baja). Los parámetros de evaluación permiten la formulación de hipótesis de riesgo específicas, a partir de las cuales es posible definir objetivos medibles (Gray 2012; Raybould 2006).

Además de las metas de protección, se considera que los requerimientos de datos expresados en el marco regulatorio aseguran que la evaluación de riesgo provea información suficiente y permita la toma de decisiones.

Los requerimientos regulatorios de datos no siempre están claramente definidos en todos los sistemas regulatorios, pero en la ausencia de directrices regionales específicas, existen organizaciones internacionales como la OECD y el Codex (Codex Alimentarius 2003b; OECD 1993b), que han estado facilitando la armonización de los procedimientos de evaluación de riesgo. Algunas autoridades regulatorias tienen amplios documentos guía que delimitan la información y los estudios requeridos para sus evaluaciones de seguridad. Otras agencias regulatorias son menos específicas, pero aún exigen una amplia evaluación de seguridad (Macdonald 2012).

Los documentos, que proveen un marco de evaluación y una guía sobre los datos necesarios para realizar la evaluación,

fueron desarrollados como resultado de varias conferencias científicas y consultas intergubernamentales sobre la inocuidad alimentaria y la biotecnología (Codex Alimentarius 2003b; Codex Alimentarius 2003a; OECD 1993a; OECD 1993b).

En resumen, durante esta etapa en la formulación de problemas es importante tener una comprensión clara de los objetivos de protección y requerimientos regulatorios para asegurar que la evaluación ayude a los reguladores locales a tomar decisiones en cuanto a si aprobar o no el alimento o forraje GE para el consumo en ese país.

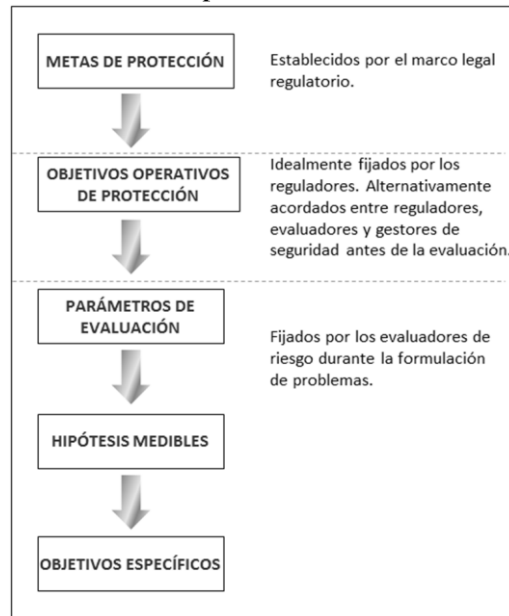


Fig. 4: Traducción de objetivos de políticas de protección en objetivos operativos de protección para su utilización en la evaluación de riesgo

Recolección de información relevante

La información utilizada en las evaluaciones debe ser de alta calidad, fiable y bien referenciada de manera que las fuentes de información puedan ser evaluadas y revisadas por otras partes, pero

sobre todo, debe ser relevante (“conocimiento necesario” *versus* “conocimiento interesante”) (Raybould 2012). Por ejemplo, algunas informaciones pueden ser fiables y de alta calidad, pero simplemente irrelevantes, en cuyo caso los reguladores podrían pasar una gran cantidad de tiempo revisando información que no facilitará su conclusión y podría retrasar la toma de decisiones (Raybould 2012).

Las fuentes de información relevante pueden ser muy variadas e incluir estudios regulatorios generados por el desarrollador, literatura científica, documentos de consenso internacional y reportes de evaluaciones realizadas por autoridades regulatorias en otros países. Los estudios regulatorios apuntan a proveer información utilizando protocolos validados que siguen directrices internacionales. Estos estudios dan confianza en la metodología utilizada y están reportados en suficiente detalle para establecer qué materiales fueron utilizados, cómo fueron producidos y qué técnicas analíticas fueron utilizadas. Los estudios reportados en publicaciones científicas también podrían seguir algunos de estos principios, pero a menudo reflejan innovaciones en metodología que podrían no estar aún validados y por lo tanto requerir más trabajo antes de poder ser utilizados en evaluaciones regulatorias. Al momento de recolectar información para la evaluación de seguridad, es clave que los evaluadores establezcan la relevancia y el peso de cada pieza de información recolectada.

El Codex Alimentarius y los documentos de la OECD citados previamente proveen orientación útil sobre los tipos de información a recolectar para

las evaluaciones de seguridad de alimentos y forraje GE. Esto usualmente cubre información sobre el cultivo convencional, sobre los genes transferidos y sobre el cultivo GE. Se realiza entonces una comparación entre el cultivo GE y sus contrapartes convencionales para establecer si existe equivalencia sustancial y para identificar diferencias que podrían causar efectos de salud adversos. Esta parte de la evaluación comparativa se utiliza para determinar si se detectaron diferencias no intencionales relevantes y si deben ser incluidas en la evaluación.

En resumen, la formulación de problemas orienta la recopilación de información relevante para la evaluación de seguridad.

Caracterización inicial de riesgo

Durante el primer paso de la formulación de problemas, toda la información recolectada se utiliza para realizar una caracterización inicial de riesgo. Para la evaluación de inocuidad de alimentos y forraje, la evaluación comparativa es una parte esencial ya que permite identificar los riesgos potenciales que deben incluirse en la evaluación (diferencias deseadas y/o no deseadas identificadas entre la planta GE y la contraparte convencional) y también puede proveer información sobre exposición previa. Ya que el riesgo es una función del peligro y la exposición, la caracterización de riesgo realizada dentro de la formulación de problemas apunta a recolectar información disponible para la evaluación de los efectos adversos para la salud asociados con los peligros identificados y una estimación de los niveles de exposición a esos peligros en alimentos o forraje.

Por ejemplo, si la única diferencia observada entre la planta GE y la contraparte convencional es la proteína introducida, la evaluación de riesgo se enfoca en la proteína. La información recolectada puede utilizarse para establecer si la proteína puede ser tóxica para humanos u otros animales y si la proteína está realmente presente en las partes de la planta que serán consumidas como alimento o forraje.

Evaluación de la peligrosidad

El primer paso de la evaluación del peligro es identificar los peligros que presenta la planta GE. Como se explicó más arriba, la evaluación comparativa facilita este proceso (Fig. 2). La evaluación de la peligrosidad apunta a establecer el potencial intrínseco del agente de causar efectos de salud adversos. Por lo tanto se evalúa la toxicidad potencial para humanos y otros animales para cualquier diferencia relevante identificada. Como se discutió previamente, en la mayor parte de los cultivos GE evaluados hasta hoy, las únicas diferencias observadas entre la planta GE y las contrapartes convencionales son las características deseadas. La toxicidad potencial de estas características ha sido evaluada. Estas evaluaciones han sido realizadas caso por caso teniendo en cuenta la fuente, la función, la actividad y el historial de consumo seguro para humanos u otros animales. En general, dadas la estructura y las propiedades de las proteínas introducidas en los cultivos GE hasta hoy, la biodisponibilidad oral de estas proteínas es muy baja y la mayoría de las proteínas no son tóxicas. Sin embargo, como existen algunas proteínas que son toxinas conocidas, usualmente se realizan

evaluaciones para determinar similitudes de secuencia con toxinas y alérgenos. Las proteínas que son toxinas conocidas generalmente ejercen su efecto a través de modos de acción agudos. Por esta razón, algunas autoridades regulatorias requieren estudios confirmatorios de seguridad. Usualmente esto implica la provisión de datos de toxicidad oral aguda sobre nuevas proteínas administradas a altas dosis en donde se reportan “*niveles sin efecto adverso observable*” (*no observed adverse effects levels*, NOAELs). Para la mayoría de las proteínas utilizadas en cultivos GE, estos NOAELs reflejan la dosis máxima probada en los estudios, ya que jamás se han detectado niveles de efectos tóxicos adversos incluso en estas dosis altas (Hammond 2008).

Están disponibles varias revisiones de literatura que proveen datos sobre estudios de toxicidad realizados en muchas de las proteínas utilizadas en cultivos GE, por ejemplo, Hammond (2008) hace una revisión excelente de los métodos y el proceso utilizados para la caracterización de la toxicidad potencial de las proteínas.

Para peligros identificados durante la evaluación comparativa sobre los cuales no existen datos disponibles en cuanto a exposición previa o toxicidad, la formulación de problemas puede ayudar a determinar qué información debe ser generada para la evaluación de la peligrosidad. Como se describe en el Codex Alimentarius (2003b), uno de los primeros pasos es recolectar toda la información disponible sobre la estructura y la función de las características o los componentes, y determinar si existen similitudes con toxinas o alérgenos conocidos. En el caso de los agentes peligrosos que son proteínas, su secuencia

se compara con secuencias de toxinas, antinutrientes o alérgenos conocidos.

La necesidad de realizar estudios adicionales de toxicidad se evalúa caso por caso y dependerá de la identidad y la función biológica del agente bajo estudio en el cultivo GE y la probabilidad de exposición dietaria. También pueden considerarse otros tipos de estudios, tales como estudios *in vitro*.

Por ejemplo si la evaluación ha de enfocarse en una proteína transgénica producida por una planta GE, se puede recolectar información sobre cualquier exposición segura previa en alimentos o forraje, y se puede determinar si fue a niveles similares a aquellos encontrados en la planta GE. Tales proteínas que tienen un historial de consumo seguro en alimentos se consideran seguras para el consumo (Hammond y Cockburn 2008).

Evaluación de exposición

En evaluaciones de riesgo de alimentos y forraje, la evaluación de la exposición se basa en la estimación de la ingesta diaria de los peligros identificados (Cuadro 4) y el cálculo del efecto del procesamiento del alimento o forraje. La evaluación se realiza en un proceso por etapas en donde inicialmente se considera un escenario conservador de “peor caso o de máxima exposición”. El peor caso se construye a fin de reflejar las condiciones de niveles mucho mayores de exposición que los que ocurrirían normalmente para representar la mayoría de los escenarios de exposición. Si el riesgo estimado en este escenario es aceptable, el riesgo asociado a menor exposición será también menor y por lo tanto también aceptable. Si el riesgo no es aceptable, se pueden refinar las estimaciones de exposición para que

reflejen niveles más realistas. Los estudios de expresión realizados para determinar las concentraciones de las proteínas nuevas en la planta GE proveen datos sobre sus niveles esperados en tejidos comestibles. Las bases de datos de consumo de alimentos proveen estimaciones sobre la ingestión esperada de ciertos alimentos en la dieta. El conocimiento sobre los usos del cultivo convencional en alimentos y forraje también provee información útil para la evaluación de exposición, ya que ayuda a determinar si el alimento o forraje se consume crudo o cocido o si sólo se consumen ciertos productos procesados de la planta.

Un escenario conservador de “peor caso” de exposición puede construirse considerando los siguientes supuestos:

- El alimento o forraje contendrá los máximos niveles de expresión detectados en la planta GE (exposición máxima, ya que no se consideran procesamientos ni cocción que pudieran disminuirla).
- Toda la ingesta dietaria estimada para ese alimento o forraje se compone del producto GE en evaluación (exposición máxima, ya que los productos agrícolas usualmente son mezclados y la pureza de 100 % es rara).

Existen varias bases de datos que proveen datos recolectados sobre el consumo humano de alimentos en distintos países, por ejemplo los “grupos de régimen alimenticio del Sistema Mundial de Vigilancia del Medio Ambiente (*GEMS/Food Cluster Diets*)” (WHO 2010). Otros ejemplos de bases de datos pueden encontrarse en una revisión de la literatura (Petersen 2008).

CUADRO 4. EVALUACIÓN DE EXPOSICIÓN A NUEVA PROTEÍNA

El máximo nivel de expresión de una de las proteínas nuevas introducidas en un maíz GE es de 1,8 µg/g en peso fresco. Asumiendo que el consumo de maíz en la población para la cual se está realizando la evaluación se estima en 150,4 g maíz/persona/día, y considerando que una persona promedio pesa 60 kg, el consumo de maíz es de 2,5 g maíz/kg peso corporal/día. La cantidad de proteína nueva en la dieta sería:

$$150,4 \text{ g maíz}/60 \text{ kg persona/día} \times 1,8 \text{ µg proteína/g maíz} = 0,0045 \text{ mg proteína nueva/día}$$

Evaluación de riesgo

Durante este paso de la formulación de problemas se puede realizar una caracterización inicial de riesgo utilizando todos los datos relevantes disponibles sobre la peligrosidad y la exposición a la característica en cuestión. En el caso de las evaluaciones de riesgo de alimentos y forraje, la toxicidad potencial de los componentes peligrosos identificados (es decir, las diferencias relevantes entre la planta GE y su contraparte convencional que podrían causar daño) es evaluada como se describe en la Sección *Evaluación de peligrosidad* y la exposición a ellos es estimada como se describe en la Sección *Evaluación de exposición*. Cuando es posible, el riesgo se cuantifica para tener una estimación de la relación toxicidad/exposición y de márgenes de seguridad. Por ejemplo, si se considera que una proteína puede ser tóxica y se ha realizado un estudio de toxicidad, el parámetro medido, usualmente un NOAEL, puede compararse con la exposición estimada en la dieta. Esta técnica se sigue rutinariamente para evaluar el riesgo de productos químicos o sustancias tóxicas para obtener una medida de los márgenes de exposición y estimar

cuánto del alimento en el cual la proteína está presente sería necesario consumir para recibir una dosis tóxica. En el caso de las proteínas, esta técnica no es tan útil ya que usualmente no existen efectos adversos detectados en los estudios de toxicidad, por lo cual la estimación indicaría cuánto alimento que contenga la nueva proteína tendría que consumir una persona para recibir una dosis que se haya demostrado que no produce ningún efecto adverso. Entonces la única ventaja de este enfoque es que provee alguna cuantificación, pero ésta requiere interpretación cuidadosa.

A menudo las mediciones cuantitativas de peligrosidad y exposición no son posibles y se utilizan descripciones categóricas ordenadas de riesgo. Un buen ejemplo de categorización de riesgo a través de un abordaje cuantitativo se describe en la Oficina del Regulador de la Tecnología Genética (OGTR 2009). Esta técnica estima la probabilidad de que ocurra un efecto adverso (evaluación de probabilidad) y la compara con una estimación de las consecuencias si ocurre. Se provee una escala descriptiva para la probabilidad y seriedad del daño en relación con la salud humana (Fig. 5). Si no se espera que ocurra daño (por ejemplo, porque el objeto del análisis no es tóxico o no existe exposición verosímil), el riesgo se considera insustancial y el impacto no necesita un análisis más profundo.

		ESTIMACIÓN DE RIESGO			
		Bajo	Moderado	Alto	Alto
EVALUACIÓN DE LA PROBABILIDAD	Altamente probable	Bajo	Moderado	Alto	Alto
	Probable	Bajo	Bajo	Moderado	Alto
	Poco probable	Despreciable	Bajo	Moderado	Moderado
	Muy poco probable	Despreciable	Despreciable	Bajo	Moderado
		Mínimo	Menor	Intermedio	Mayor
EVALUACIÓN DE LAS CONSECUENCIAS					

Fig. 5: Matriz de riesgo para estimar el nivel de riesgo de una combinación de resultados de evaluaciones de probabilidad y consecuencia (OGTR 2009)

En algunos casos, la caracterización inicial de riesgo realizada durante la formulación de problemas no es suficiente y el análisis debe continuar con el diseño de un plan que pueda proveer la información necesaria para completar la evaluación. Esto usualmente involucra una evaluación de la peligrosidad y la exposición más profunda que puede requerir la realización de estudios apuntados al abordaje de hipótesis específicas de prueba. Si luego de completar la evaluación el riesgo o la incertidumbre asociada con él se consideran demasiado altos, se puede implementar un plan de manejo de riesgo. Por ejemplo, si se detecta el riesgo de causar un efecto tóxico debido a una toxina introducida que es lábil al calor, el riesgo podría manejarse recomendando que el alimento no se consuma crudo (tal es el caso de muchos alimentos comunes, como la mandioca).

CONCLUSIONES

Los cultivos GE se han comercializado por más de 20 años. Cada cultivo GE comercializado ha sido sometido a una estricta evaluación de seguridad para establecer la inocuidad de su uso como alimento o forraje. La experiencia adquirida en este tiempo ha llevado a una mejor comprensión de los datos requeridos para realizar evaluaciones de seguridad y existen pautas acordadas internacionalmente que describen el proceso a seguir. Sin embargo, la decisión sobre aprobar o no un cultivo GE para comercialización usualmente tiene lugar a nivel nacional, donde existen o deberían existir políticas con metas de protección y marcos regulatorios nacionales. Por lo

tanto, todas las evaluaciones de riesgo deben cumplir con estos requisitos nacionales para facilitar el proceso de toma de decisiones. La utilización de la formulación de problemas incrementa la probabilidad de que las evaluaciones faciliten la toma de decisiones, ya que los gestores de riesgo reciben información que es directamente relevante y esencial para la toma de decisiones informadas. La formulación de problemas tiene en cuenta los objetivos de las políticas de protección nacionales y los requerimientos de datos para guiar la recopilación de datos relevantes. La caracterización inicial de riesgo ayuda a establecer si se necesitan más datos; y si es así, la formulación de problemas facilita el diseño de planes de análisis para abordar las preguntas restantes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a **Wendy Craig** por ayudarnos a obtener la aprobación del *International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology* para adaptar este material al castellano y poder publicarlo en *Steviana*.

De la misma manera agradecemos a **Mónica García-Alonso**, autora del material original (*Monica Garcia-Alonso, 2013. Safety Assessment of Food and Feed Derived from GM Crops: Using Problem Formulation to Ensure "Fit for Purpose" Risk Assessments. Collection of Biosafety Reviews Vol. 8: 72-101. International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Italy. <http://bch.minambiente.it/index.php/en/component/content/article/15-pagina-web/144-vol-8>) quien gentilmente revisó y corrigió la presente adaptación.*

BIBLIOGRAFÍA

- Cockburn, A. 2002. Assuring the safety of genetically modified (GM) foods: the importance of an holistic, integrative approach. *Journal of Biotechnology* 98 (1): 79-106.
- Codex Alimentarius. 2003a. *Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant DNA plants*. Rome, Italy: CAC/GL 45-2003. Joint FAO/WHO Food Standards Programme.
- _____. 2003b. *Principles for the risk analysis of foods derived from modern biotechnology*. Rome, Italy: CAC/GL 44-2003. Joint FAO/WHO Food Standards Programme.
- Evans, J.; Wood, G. y A. Miller. 2006. The risk assessment–policy gap: an example from the UK contaminated land regime. *Environment international* 32 (8): 1066-71.
- García-Alonso, M. 2010. Current challenges in environmental risk assessment: The assessment of unintended effects of GM crops on non-target organisms. *IOBC/WPRS bulletin*, n.º 52: 57-63.
- George, C.; Ridley, W. P.; Obert, J. C.; Nemeth, M. A.; Breeze, M. L. y J. D. Astwood. 2004. Composition of grain and forage from corn rootworm-protected corn event MON 863 is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). *Journal of agricultural and food chemistry* 52 (13): 4149-58.
- Goodman, R. E.; Vieths, S.; Sampson, H. A.; Hill, D.; Ebisawa, M.; Taylor, S. L. y R. van Ree. 2008. Allergenicity assessment of genetically modified crops—what makes sense?. *Nature Biotechnology* 26 (1): 73-81.
- Gray, A. 2012. Problem formulation in environmental risk assessment for genetically modified crops: a practitioner’s approach. *Collection of Biosafety Reviews* 6: 14-65.
- Hammond, B. G. 2008. *Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology*. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Hammond, B. G. y A. Cockburn. 2008. The Safety Assessment of Proteins Introduced into Crops Developed through Agricultural Biotechnology: A Consolidated Approach to Meet Current Needs. En *Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology*, editado por B. G. Hammond, 259-88. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Harrigan, G. G.; Lundry, D.; Drury, S.; Berman, K.; Riordan, S. G.; Nemeth, M. A.; Ridley, W. P. y K. C. Glenn. 2010. Natural variation in crop composition and the impact of transgenesis. *Nature biotechnology* 28 (5): 402-4.
- Herman, R. A.; Chassy, B. M. y W. Parrott. 2009. Compositional assessment of transgenic crops: an idea whose time has passed. *Trends in biotechnology* 27 (10): 555-57.
- Herman, R. A., y W. D. Price. 2013. Unintended compositional changes in genetically modified (GM) crops: 20 years of research. *Journal of agricultural and food chemistry* 61 (48): 11695-701.
- ILSI. 2010. *Crop Composition Database* (versión 4.2). Washington DC, USA: International Life Sciences Institute. www.cropcomposition.org.
- Kleter, G. A.; Kok, E. J. y others. 2010. Safety assessment of biotechnology used in animal production, including genetically modified (GM) feed and GM animals - A review. *Animal*

- Science Papers and Reports* 28 (2): 105-14.
- Kok, E. J. y H. A. Kuiper. 2003. Comparative safety assessment for biotech crops. *TRENDS in Biotechnology* 21 (10): 439-44.
- König, A., Cockburn, A.; Crevel, R. W. R.; Debruyne, E.; Grafstroem, R.; Hammerling, U.; Kimber, I.; *et al.* 2004. Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. *Food and Chemical Toxicology* 42 (7): 1047-88.
- Kuntz, M. y A. E. Ricoch. 2012. Is it Time to Adjust the Current Regulatory Risk Assessment for GM Food and Feed?. *ISB News Report, Agricultural and Environment Biotechnology*, 1-4.
- Macdonald, P. 2012. Developing workable regulatory frameworks for the environmental release of transgenic plants. *Collection of Biosafety Reviews*, n.º 6: 126-59.
- OECD. 1993a. *Safety Consideration for Biotechnology: Scale-Up of Crop Plants*. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development. www.oecd.org/dataoecd/26/26/1958527.pdf.
- _____. 1993b. *Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology, Concepts and Principles*. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development. www.oecd.org/env/ehs/biotrack/41036698.pdf.
- _____. 2002. *Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (Zea mays). Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Secondary Plant Metabolites*. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development. www.oecd.org/dataoecd/15/63/46815196.pdf.
- _____. 2010. *Consensus Document on Molecular Characterisation of Plants Derived from Modern Biotechnology*. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development. www.oecd.org/dataoecd/16/29/46815346.pdf.
- OGTR. 2009. *Risk Analysis Framework*. Canberra, Australia: Office of the Gene Technology Regulator. [http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/raf-3/\\$FILE/raffinal4.pdf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/raf-3/$FILE/raffinal4.pdf).
- Parrott, W.; Chassy, B.; Ligon, J.; Meyer, L.; Petrick, J.; Zhou, J.; Herman, R.; Delaney, B. y M. Levine. 2010. Application of food and feed safety assessment principles to evaluate transgenic approaches to gene modulation in crops. *Food and Chemical Toxicology* 48 (7): 1773-90.
- Petersen, B. 2008. Methods for Estimating the Intake of Proteins in Food. En *Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology*, editado por Bruce G. Hammond, 223-36. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Raybould, A. 2006. Problem formulation and hypothesis testing for environmental risk assessments of genetically modified crops. *Environmental Biosafety Research* 5 (03): 119-25.
- _____. 2012. Can science justify regulatory decisions about the cultivation of transgenic crops?. *Transgenic research* 21 (4): 691-98.

- Reynolds, T. L.; Nemeth, M. A.; Glenn, K. C.; Ridley, W. P. y J. D. Astwood. 2005. Natural variability of metabolites in maize grain: differences due to genetic background. *Journal of agricultural and food chemistry* 53 (26): 10061-67.
- Ricroch, A. E. 2013. Assessment of GE food safety using ‘-omics’ techniques and long-term animal feeding studies. *New biotechnology* 30 (4): 349-54.
- Schauzu, M. 2000. The concept of substantial equivalence in safety assessment of foods derived from genetically modified organisms. *AgBiotechNet*, n.º 2: 1-4.
- Taylor, S. y S. Hefle. 2002. Allergic Reactions and Food Intolerances. En *Nutritional Toxicology*, editado por Frank N. Kotsonis y Maureen A. Mackey, 2.^a ed., 93-121. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- WHO. 2010. GEMS Food Consumption Database. *World Health Organisation*. <http://www.who.int/foodsafety/database/s/en/>.
- Wolt, J. D.; Keese, P.; Raybould, A.; Fitzpatrick, J. W.; Burachik, M.; Gray, A.; Olin, S. S.; Schiemann, J.; Sears, M. y F. Wu. 2010. Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants. *Transgenic research* 19 (3): 425-36.

Registros sobre las especies vegetales alimenticias utilizadas por dos comunidades indígenas Mbyá - Guaraní de la Reserva para Parque Nacional San Rafael, Itapúa - Paraguay

Dujak, M.¹; Ferrucci, M. S.²; Vera Jiménez, M.¹; Pineda, J.; Chaparro, E.; Brítez, M.

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

²Instituto de Botánica de Nordeste – IBONE - CONICET, Argentina

E mail del autor: marcelodujak@gmail.com

Registros sobre las especies vegetales alimenticias utilizadas por dos comunidades indígenas Mbyá - Guaraní de la Reserva para Parque Nacional San Rafael, Itapúa – Paraguay.

La biodiversidad vegetal representa la riqueza de especies de un determinado lugar y está relacionada con términos como florística, taxonomía y sistemática. Desde el enfoque etnobotánico se abordan las interrelaciones establecidas entre el hombre y las plantas, se interpreta la biodiversidad vegetal como parte de la diversidad biocultural o biodiversidad cultural. Los Mbyá – Guaraní son una parcialidad indígena perteneciente a la familia lingüística Tupí Guaraní que tradicionalmente habita en el Bosque Atlántico del Alto Paraná – BAAPA. El presente estudio se realizó en dos comunidades Mbyá - Guaraní de la Reserva para Parque San Rafael, el cual constituye uno de los últimos remanentes del BAAPA. El objetivo de este trabajo fue registrar los conocimientos sobre las plantas utilizadas en la alimentación, de la flora local nativa y exótica, dando un enfoque principal a las especies nativas silvestres comestibles. Fueron identificadas 100 especies vegetales vinculadas a la alimentación, distribuidas en 41 familias botánicas y 83 géneros.

Palabras clave: etnobiología, etnobotánica, conservación, Mbyá - Guaraní, vegetales, alimentación

Records on the food plants used by two indigenous Mbyá - Guaraní communities at the San Rafael National Park Reserve, Itapúa – Paraguay. The plant biodiversity represents the species richness of a particular place and is related to terms like floristics, taxonomy and systematics. From an ethnobotanical standpoint, in which the established relationships between man and plants are addressed, this plant biodiversity is interpreted as part of the biocultural diversity or cultural biodiversity. The Mbyá - Guaraní are an ethnic group that belongs to the Tupí Guaraní indigenous language family, and traditionally inhabits the Atlantic Forest of Alto Paraná – BAAPA (for its acronym in Spanish). This study was conducted in two Mbyá - Guaraní communities at the San Rafael National Park Reserve, which constitutes one of the last remnants of BAAPA. The aim of this study was to record the knowledge on exotic and native plants used as food, and give primary focus to native wild edible species. We identified 100 plant species used as food, distributed in 41 botanical families and 83 genera.

Keywords: ethnobiology, ethnobotany, conservation, Mbyá - Guaraní, vegetables, food

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad es la variedad y variabilidad de los organismos vivos y de los ecosistemas que la componen (Crisci,

2001). La biodiversidad vegetal representa la riqueza de especies de un cierto lugar y está relacionada con términos como florística, taxonomía y sistemática, todos

Steviana, Vol. 7, 2015, pp. 25 – 47.

Original recibido el 13 de octubre de 2015.

Aceptado el 24 de noviembre de 2015.

éstos forman parte del sustento del estudio de la biodiversidad (Morales *et al.*, 2011).

Desde un enfoque etnobotánico, en el cual se abordan las interrelaciones establecidas entre el hombre y las plantas, se interpreta la biodiversidad vegetal como diversidad biocultural o biodiversidad cultural, “en este sentido el concepto de biodiversidad no debe limitarse a la naturaleza biológica del ecosistema, sino también al hombre como un elemento más del mismo” (Morales *et al.*, 2011).

Elementos como paisaje y manejo tradicional de ecosistemas se encuentran enlazados con los saberes y prácticas sobre elementos que hacen al medio ambiente, plantas, suelos, y los procesos de selección y domesticación de especies vegetales como cultivos tradicionales y sus variedades locales (Morales *et al.*, 2011).

La etnobotánica es una disciplina que estudia el conocimiento tradicional de la flora local por ciertos grupos humanos (Martin, 2001), lo cual implica conocimientos de botánica, florística y sistemática, conjuntamente con el componente hombre y sus conocimientos y manejo de tales recursos (Crisci, 2006). Desde esta perspectiva los aportes al conocimiento de la biodiversidad local son aún más completos.

Los Mbyá–Guaraní son una parcialidad indígena que forman parte de la familia lingüística Tupí Guaraní (Zanardini & Biedermann, 2006). La subsistencia se basa en prácticas de tipo cazadores – recolectores y agricultores (Lehner, 2005). Este grupo étnico habitan en nuestro país en lo que se denomina Bosque Atlántico del Alto Paraná o BAAPA (Fragano & Clay, 2006) que corresponde al complejo de la Mata Atlántica Brasileña, también denominada Mata Atlántica Interior o

Bosque Paranaense (Mittermeier *et al.*, 1999).

El Bosque Atlántico se encuentra entre los 25 más reconocidos a nivel global como área crítica para la conservación de la biodiversidad o *hotspot*. Como consecuencia del cambio frenético sobre este ecosistema actualmente la vegetación se redujo en más del 70 por ciento (Galindo Leal & de Gusmão Câmara, 2006).

Entre los últimos remanentes boscosos significativos del BAAPA se encuentra la Reserva para Parque Nacional San Rafael (RPPSR), con una superficie aproximada de 78.000 mil hectáreas, es el área protegida más extensa que presenta este ecosistema (Cartes & Yanosky, 2006). La reserva San Rafael constituye parte del territorio ancestral de grupos nativos Mbyá–Guaraní, los cuales habitan tradicionalmente desde hace siglos, desarrollando su cultura tradicional y formando parte de la biodiversidad cultural (Zanardini & Biedermann, 2006).

La cosmovisión guaraní se halla representada en el “*tekoha*”, que reconoce la relación establecida entre el pueblo y su medio ambiente natural. El *tekoha* puede representarse en una porción de bosque conservado donde se practica la recolección de plantas, la caza, las artesanías, la agricultura, las reuniones, los rituales y las festividades (Zanardini & Biedermann, 2006). A falta de uno de estos espacios, componentes del *tekoha*, no será posible que la comunidad viva en equilibrio y se desencadenará el quiebre de la armonía hombre-medio ambiente (Brighenti, 2005). Las plantas proveen para las diferentes actividades de la subsistencia; son alimenticias, se utilizan como materia prima para la caza, pesca,

elaboración de utensilios de cocina, forrajeras y combustibles (leña).

El objetivo de este trabajo fue registrar los etnotaxones (taxones locales) utilizados en la alimentación de la flora nativa y exótica por dos comunidades indígenas Mbyá - Guaraní de la RPPSR. En este trabajo se hizo un enfoque principal en las especies nativas silvestres comestibles. Estos resultados forman parte de una línea de investigación de estudios etnobotánicos y de conservación en esta reserva natural.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El sitio de estudio se encuentra en la ecorregión Bosque Atlántico del Alto Paraná (BAAPA), formación boscosa subtropical húmeda con precipitación promedio anual entre 1300-1800 mm irrigado por numerosos ríos y arroyos que desembocan principalmente en los ríos Paraná y Paraguay (Fariña Sánchez, 1973; Davis *et al.*, 1997).

Este ecosistema presenta características florísticas heterogéneas y propias. Teniendo en cuenta el criterio botánico de Spichiger *et al.* (1995), quienes lo dividen como la subregión Alto Paraná - Bosques del Paraná. El área corresponde a la distribución de la cordillera San Rafael compuesta por un bosque heterogéneo de estrato arbóreo superior caducifolio constituido por árboles superiores a 30 metros de altura, hasta 35 ó 40 metros en zonas de buen drenaje. Se presentan especies arbóreas características como: cedro (*Cedrela tubiflora*), aju'y (*Nectandra* spp.), lapacho (*Tabebuia* spp.), yvyra pere (*Apuleia leiocarpa*), guatambu (*Balfourodendron riedelianum*), incienso (*Myrcarpus frondosus*), yvyra pytã

(*Peltophorum dubium*), laurel guicá (*Ocotea* spp.), y timbo (*Enterolobium contortisiliquum*) (CDC, 1990). Además de bosques se encuentran mosaicos de vegetación herbácea, como ser los humedales y pastizales naturales (Fragano & Clay, 2006).

Los sitios de muestreo se localizaron en dos comunidades indígenas Mbyá - Guaraní, ambas ubicadas en zonas rurales del distrito de Alto Verá del departamento de Itapúa. La comunidad de Arroyo Morotí se encuentra dentro de la RPPSR, mientras que la comunidad Pindo'í se encuentra en el área de influencia directa, en el margen al sur de la RPPSR.

La comunidad Pindo'í se encuentra a 134 km de Encarnación, la capital departamental, y a 26 km de Alto Verá, la cabecera distrital; abarca una superficie de 500 ha. Mientras que la comunidad Arroyo Morotí se encuentra a 142 km de Encarnación y a 34 km de Alto Verá, comprende una superficie de 1000 ha (Fig. 1).



Fig. 1: Área de estudio indicando las comunidades Arroyo Morotí y Pindo'í en su ubicación con respecto a la RPPSR

Metodología

Se trabajaron 30 días directamente con 57 pobladores locales. En el transcurso de

la investigación (2012-2014) se realizaron seis salidas de campo. Las entrevistas fueron realizadas generalmente en guaraní y con menor frecuencia en castellano. Mediante los trabajos iniciales a campo se reconocieron a aquellos pobladores que presentaron mayor conocimiento sobre la temática en cuestión asignándolos como “expertos locales” (Martín, 2001). Las metodologías utilizadas para la toma de datos fueron: entrevistas no estructuradas, semi-estructuradas y listados libres (De Albuquerque *et al.*, 2010; Martín, 2001). Todas estas fueron direccionadas al conocimiento de las especies vegetales utilizadas en la alimentación. Esto no solo se refiere a las especies alimenticias, sino también a otras que forman parte de la obtención y procesamiento de los alimentos como ser combustibles (leñas), elementos de caza y pesca, utensilios, forrajeras.

Se tomaron notas y/o grabaciones de voz de los relatos, observaciones y entrevistas. Las informaciones tomadas se cruzaron en el transcurso de la investigación a fin de asegurar la consistencia de las mismas.

La observación participante fue empleada para obtener un panorama global de las actividades de los pobladores acerca de la obtención, procesamiento y consumo de los vegetales (De Albuquerque *et al.*, 2010; Martín, 2001). Esta metodología se complementó con caminatas en el bosque (Thomas *et al.*, 2007; De Albuquerque *et al.*, 2010) con informantes para realizar colectas de materiales vegetales (muestras testigo) utilizados tradicionalmente. Los datos fueron registrados mediante anotaciones en notas de campo, planillas y registros fotográficos.

Los especímenes colectados fueron determinados y corroborados con materiales de herbarios y otras fuentes como los catálogos en línea: Darwinion - Flora del Conosur; Trópicos (*Missouri Botanical Garden*); IPNI (*Royal Botanical Gardens*, KEW). La obra de Hurrell *et al.* (2010) fue utilizada para la determinación del origen y distribución de las especies alimenticias cultígenas. Las muestras testigo fueron depositadas en el herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN) y los duplicados en el herbario de la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ).

Se realizaron revisiones de la literatura vinculada al tema para indagar y comparar con los resultados obtenidos *in situ*. Se confeccionaron listados de usos de los vegetales vinculados a la alimentación mediante la sistematización de los registros; identificación botánica, asignación de nombres científicos y nombres locales (nombre vernáculo) y categorización de uso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de la diversidad de especies vegetales

Se determinaron 100 especies vegetales vinculadas a la alimentación en las dos comunidades Mbyá - Guaraní estudiadas. Se determinaron 41 familias botánicas y 83 géneros. Las familias más representativas fueron: Fabaceae (10 especies), Myrtaceae (9 especies), Poaceae (9 especies), Rutaceae (6 especies), Cucurbitaceae (5 especies), Sapindaceae (5 especies), Meliaceae (4 especies), Solanaceae (4 especies), Euphorbiaceae (3 especies), Moraceae (3 especies), el resto de las familias presentaron frecuencias de 1 ó 2

especies. A nivel genérico, los más representativos corresponden a *Citrus* (4 especies) y *Campomanesia* (3 especies), los demás presentaron frecuencias de 1 ó 2 especies (Fig. 2). Las plantas utilizadas son mayormente de origen nativo (67 especies), aprovechadas directamente de su entorno, y 33 son de origen exótico, éstas generalmente obtenidas de los cultivos de autoconsumo (Fig. 3; Anexo).

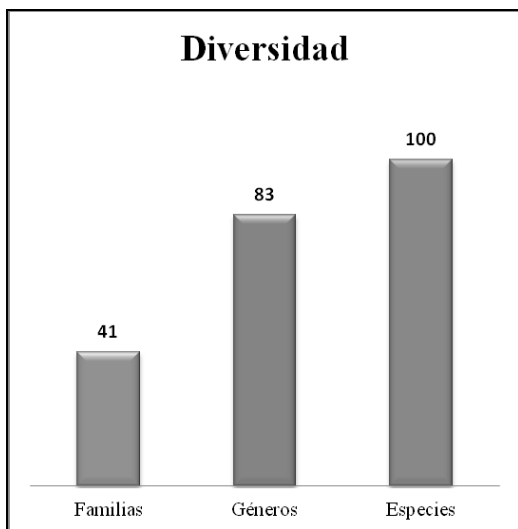


Fig. 2: Diversidad de familias, géneros y especies vegetales

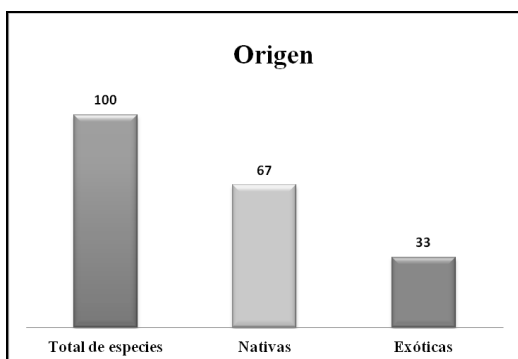


Fig. 3: Origen de las especies vinculadas a la alimentación

Origen y modo de obtención de los recursos vegetales

La alimentación en las comunidades estudiadas se sostiene principalmente por la recolección del entorno natural y la agricultura; 74 especies son obtenidas por recolección y 34 a partir de los cultivos. Cabe mencionar que ocho especies son obtenidas tanto de manera silvestre como cultivada. Las especies recolectadas proveen para varios aspectos de la alimentación como ser: alimento, combustible (leña), utensilios culinarios, elementos de caza y elementos de pesca. Las especies cultivadas son principalmente para el consumo familiar, del total de 34 especies cultígenas 32 son comestibles, correspondiendo solo dos a otras categorías (forrajera y utensilio) (Fig. 4). Puede notarse una relación directa entre las especies silvestres y la recolección, esto se debe al vínculo estrecho entre los nativos y su entorno natural (bosque).

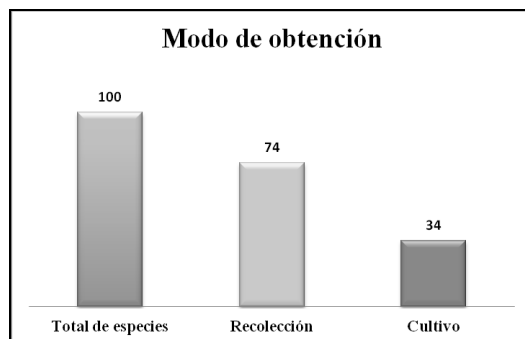


Fig. 4: Modo de obtención de los recursos vegetales

Categorías de uso

Las especies registradas en la temática vinculadas a la alimentación son diversas y hacen referencia a los diferentes aspectos que hacen a la alimentación, desde plantas comestibles hasta vegetales utilizados para la caza, pesca, leña, utensilios, etc. Se

determinaron seis categorías de uso en ambas comunidades. Las especies registradas en el estudio y sus informaciones asociadas se encuentran en detalle en el anexo. La categoría alimenticia fue la mejor representada, 69 especies vegetales utilizadas son comestibles, 18 son combustibles (leñas), 14 son útiles en la elaboración de utensilios de cocina, 12 son utilizadas para la pesca, 10 son utilizadas para la caza, dos especies son utilizadas para el comercio y una es utilizada como forrajera.

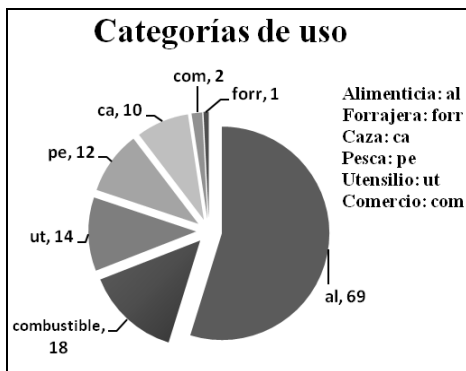


Fig. 5: Categorías de uso de especies vinculadas a la alimentación

Casi el 70 % de las especies registradas corresponden a plantas comestibles, siendo la categoría alimenticia la de mayor frecuencia. Los órganos o partes vegetales más aprovechados son los frutos comestibles (46) seguidos de los tallos (37), éstos son utilizados para fines diversos como leña, elementos de caza, pesca y utensilios. Las hojas (14), raíces (10) y semillas (6) son utilizadas mayoritariamente como comestibles. En algunas especies son utilizadas sus partes aéreas completas (3) con fines alimenticios u otros (Anexo).

Especies alimenticias obtenidas por recolección

La recolección de plantas silvestres junto con la agricultura son las actividades fundamentales en la subsistencia alimentaria. Las especies más frecuentes son aquellas que presentaron frutos comestibles (Anexo). Éstos forman parte fundamental de la dieta local debido a que se encuentran ampliamente distribuidos en los bosques circundantes a las comunidades. Tales especies se citan a continuación acompañados de sus respectivos nombres locales (etnotaxones): *Allophylus edulis*, (koku), *Annona cacans* (aratiku guasu), *Bromelia* sp. (karaguata), *Campomanesia guazumifolia* (ñandu apysa), *Campomanesia pubescens* (teju ka'á, /guavira miri), *Campomanesia xanthocarpa* (guavira), *Chrysophyllum gonocarpum* (aguai), *Eugenia uniflora* (ñangapiry), *Hexachlamys edulis* (yvahái) *Inga marginata* (inga ñ), *Inga uraguensis* (inga guasu), *Jacaratia spinosa* (jarakati'á), *Lantana trifolia* (aguara yva'y), *Maclura tinctoria* var. *tinctoria* (tatajyva, mora ka'á guy), *Melicoccus lepidopetalus* (yvapovõ), *Myrcianthes pungens* (yvaviju), *Plinia trunciflora* (yvapuru), *Passiflora* sp., (mburukuja), *Philodendron bipinnatifidum* (guembe), *Plinia rivularis* (yvaporoiity), *Rheedia brasiliensis* (pakuri), *Syagrus romanzoffiana* (pindo). Todos estos frutos son consumidos crudos (pyra en guaraní) excepto *Chrysophyllum gonocarpum* (aguai) y *Jacaratia spinosa* (jarakati'á). Estas dos últimas presentan propiedades irritantes, por lo cual son previamente hervidas (mimói) o cocinadas a las brasas (mbichy). Los frutos de *Philodendron bipinnatifidum* (guembe) pueden consumirse crudos si se encuentran bien

maduros (*hi'a ju*), o cocidos a las brasas (*oñembichy tatápe*) en el caso que se encuentren inmaduros (*hi'a ky*). En *Bromelia* sp. (*karaguata*) los frutos pueden consumirse crudos o hervidos o cocidos a las brasas.

Otras especies son recolectadas y aprovechadas por sus tallos comestibles (siete). Las cortezas de *Cedrela fissilis* (*ygary* o cedro) y *Guarea macrophyla* (cedrillo o *mborevi rembi'u*) son utilizadas como saborizantes del agua para el tereré (bebida tradicional paraguaya). Los cogollos (tallos jóvenes) de *Syagrus romanzoffiana* (*pindo*) también son consumidos crudos y constituye un alimento muy valorado.

Se determinaron nueve especies cuyas hojas son comestibles. La más estimada corresponde a la yerba mate o *Ilex paraguariensis* (*ka'a*) y puede encontrarse aún algunas poblaciones silvestres. La recolección y el cultivo de yerba mate para autoconsumo no son usuales en las comunidades estudiadas. Algunos de los entrevistados indicaron que las actividades de extracción y procesamiento de la misma no son frecuentes actualmente, por lo cual habitualmente se obtiene de los comercios.

En otras especies son utilizadas sus hojas y partes aéreas como saborizantes del mate y tereré; las especies se citan a continuación: *Allophylus edulis* (*koku*), *Lippia brasiliensis* (*jatei ka'a ka'aguy*), *Miltonia flavescens* (*akuchipoi*), *Peperomia circinnata* (*jatevu ka'a*), *Piper regnellii* (*jaguarundi*) y *Scoparia dulcis* (*typycha kuratu*).

Las raíces recolectadas (cinco) tienen usos diversos en la alimentación, *Acrocomia aculeata* (*mbokaja*), *Dolichandra unguis-cati* (*yvy'a*) y *Talinum paniculatum* (*ka'a ruru*) son utilizadas

como *pohã roysã* (remedio refrescante), saborizantes del tereré. *Dichorisandra hexandra* (*kyrÿu*) presenta un tubérculo (Aona-Pinheiro *et al.*, 2014) consumido por las mujeres en periodo de lactancia. Según los relatos de una anciana entrevistada en la comunidad Pindo í esta planta es una especie galactógena muy saludable para la madre y el niño. Otra especie con órgano subterráneo de acumulación (tubérculo) corresponde a *Dioscorea* aff. *dodecaneura* (*karachĩ chĩ*), especie probablemente caída en desuso.

Se registró una especie nativa silvestre cuyas semillas son aprovechadas en la alimentación. *Acrocomia aculeata* (*mbokaja* o coco), la cual es molida (*oñemongu'í*) en el *angu'a* (mortero) para consumir como mate dulce (bebida) reemplazando a la yerba mate (*ka'a*).

Entre las especies comestibles los frutos son las partes u órganos de mayor frecuencia (46) para consumo. La mayor parte de los frutos mencionados en los resultados fueron citados por numerosos autores, haciendo referencia a los frutos silvestres como parte de la alimentación tradicional (Martínez Crovetto, 1968a; Céspedes *et al.*, 2008; Keller, 2007). Cabe mencionar que los conceptos de fruto y fruta son distintos. En el lenguaje botánico la palabra fruto corresponde al ovario desarrollado posterior a la fecundación del óvulo dentro de una flor (Dimitri & Orfila 1985), en cambio el término fruta refiere a los frutos comestibles de ciertas plantas (RAE, 2001) y por cuyas propiedades nutricias y organolépticas (sabor, olor, textura) se consumen (Hurrell *et al.*, 2010). De modo similar en las comunidades estudiadas la palabra *yva* es utilizada de manera equivalente al término fruto (definición botánica). En las entrevistas

realizadas en las comunidades surgía el término *hi'a* o *ia* para indicar la parte u órgano comestible (fruto, semilla o raíz). Según Correa de Báez *et al.* (2010) la palabra *hi'a* corresponde al verbo fructificar en guaraní, sin embargo en las entrevistas efectuadas era utilizado a modo de sustantivo.

Las especies silvestres son recolectadas en distintos momentos de las jornadas diarias, cuando lo desean, cerca de la casa, en caminatas o en viajes a otras comunidades. Los frutos silvestres son la provisión de alimento casi omnipresente, los cazadores (hombres) se abastecen de estos recursos en sus largas caminatas en busca de animales silvestres, *mymba ka'a guy*. La recolección es una actividad de hombres y mujeres y se adecua a las condiciones circundantes en el medio ambiente (Lehner *et al.*, 2012). Los niños a partir de temprana edad interactúan con los frutos del entorno formando parte de la experimentación con los recursos del entorno; otros autores hacen referencia a esta actividad (Giménez Castillo, 2012; Keller, 2007). Otras plantas silvestres importantes de mencionar son los tubérculos y raíces tradicionales, estos recursos eran consumidos crudos, cocidos, tostados o a las cenizas (rescoldo). Los nombres vernáculos *karā* o *karachĩ*, hacen referencia al género *Dioscorea*; las especies *Dioscorea* aff. *multiflora* (*guasu kavara*), *Dioscorea sinuata* (*ynambu jety*) y *Dioscorea* sp. (*karachĩ*) son plantas alimenticias mencionadas en Martínez Crovetto (1968a) y Bertoni (1927).

En la investigación actual se determinaron dos especies silvestres cuyos órganos subterráneos fueron mencionados como comestibles. *Dioscorea* aff. *dodecaneura* (*karachĩ*) fue encontrada en

áreas ruderales, como caminos y barbechos (*kokuere*), cuyas lianas crecen sobre otras plantas y sus raíces se expanden profundamente en el suelo.

El consumo de este tubérculo no es muy apreciado, ciertos informantes locales (anciana esposa del líder de una comunidad y su hijo adulto) relataron que sólo los adultos o ancianos deben consumirlo por el hecho que éste les puede cambiar el ánimo, volviéndolos ermitaños o solitarios (*ay*). En consecuencia los jóvenes y solteros que lo coman no conseguirían pareja. Probablemente se asocia el gusto (sin sabor) de este tubérculo con el estado de ánimo de las personas que los consumen, en su mayoría ancianos. El *karachĩ* (*Dioscorea dodecaneura*) es una especie citada por Keller (2007), éste hace mención al tubérculo como alimento antiguo y la manera de obtener información de la misma es mediante consultas a ancianos que tienen recuerdos de haberlos consumido en el pasado.

Especies cultivadas

La agricultura es otra de las actividades principales en la alimentación Mbyá, las especies cultígenas proveen la materia prima en las recetas culinarias tradicionales y suministran principalmente las fuentes de carbohidratos y proteínas vegetales. Las especies cultivadas son en general para autoconsumo y cubren la dieta básica de la alimentación.

Ciertas especies son consumidas en general solas sin previo procesamiento y en cualquier momento del día. *Arachis hypogaea* (*manduvi*) es una especie nativa cultivada en los huertos (*kokue*) y es consumida cruda o tostada (*maimbe*). Las especies *Carica papaya* (*mamone*), *sándia*

Dujak, M. et al. Especies vegetales alimenticias de los Mbyá-Guaraní

(*Citrullus lanatus*), mandarina (*Citrus nobilis*), naranja (*Citrus sinensis*), limo (*Citrus x limon*), mero (*Cucumis melo*), hovenia (*Hovenia dulcis*), mora (*Morus alba*) y pakova (*Musa paradisiaca*) presentan frutos que son consumidos crudos. Las dos especies cuyos tallos son utilizados corresponden a: *takuare ã* (*Saccharum officinarum*) del cual se extrae la miel de caña con una maquina denominada trapiche (bebida) y *takuare ã avachi* (*Sorghum saccharatum*) cuyos tallos son masticados y succionados por los niños extrayendo la savia dulce. Algunas especies (recolectadas/cultivadas) tienen la capacidad de reproducirse espontáneamente (adventicias) en áreas antrópicas como barbechos o áreas peridomiciliarias, por ende pueden ser también recolectadas de manera silvestre.

Los vegetales ricos en carbohidratos se encuentran presentes en la culinaria local, el *avati* o maíz (*Zea mays*) es utilizado para múltiples recetas. El *jety* o batata (*Ipomoea batatas*) y el *mandi'õ* o mandioca (*Manihot esculenta*) son los acompañantes de todas las comidas, especialmente la mandioca, éstas se denominan localmente como *tembi'ú tyra*.

La principal fuente de proteínas es provista por las legumbres, *kumanda* y habilla; entre ellas se citan: *Phaseolus vulgaris* (habilla), *Vigna radiata* (*kumanda sa'ĩ*) y *Vigna unguiculata* (*kumanda*) con dos etno-variedades, *kumanda ñu* y *kumanda hovy*. Las verduras son otro elemento presente en la culinaria, el zapallo (*Cucurbita maxima*) y la calabaza o *andai* (*Cucurbita moschata*) son utilizados juntamente con las legumbres en preparados varios.

Otros vegetales son utilizados como verduras y condimentos dando un sabor

particular a las comidas. Las especies son: *Coriandrum sativum* (*kuratu*), *Origanum vulgare* (orégano), *Allium cepa* (*sevói* o cebolla), *Allium fistulosum* (*sevói hogue* o cebolla en hoja), *Capsicum annuum* (locote), *Capsicum* sp. (*ky'yĩ pytã'ĩ*), *Solanum lycopersicum* (tomate) y *Daucus carota* (zanahoria).

Se registró una especie fumatoria, corresponde al tabaco o *petỹ* (*Nicotiana tabacum*), la cual es cultivada tradicionalmente; las hojas son procesadas para la elaboración de cigarros o fumadas en pipas (*petỹngua*).

Fueron registradas 32 especies cultígenas comestibles (Anexo), la mayoría de ellas corresponden a cultivos tradicionales (Martínez Crovetto, 1968b). El *avati* (*Zea mays*) es el elemento culinario básico el cual tiene múltiples usos en los distintos platos tradicionales. El maíz y sus variedades alcanzaron el adjetivo de "plantas preferidas" en varios países de influencia guaraní (Bertoni, 1927). La introducción y su cultivo se dio por las largas expediciones que estos pueblos hacían a las tierras de Centroamérica y México, de donde es originaria la especie (Bertoni, 1927). Este cultígeno presentó una elevada cantidad de variedades locales (etnotaxones) registradas en las comunidades, las cuales se citan a continuación: *avati chi* o *morotĩ*, *avati ju* o *sa'yju*, *avati tupi*, *avati mitã*, *avati para'ĩ*, *avati para guasu*, *avati chape guasu*, *avati pytã* y *avati tove*. Los varietales *avati tupi*, *avati para*, *avati morotĩ*, y *avati mitã* registradas en el presente estudio coincidieron con los registros obtenidos por Martínez Crovetto (1968b).

La mandioca (*Manihot esculenta*), especie originaria de Sudamérica es otro vegetal estimado por los nativos guaraníes.

“Parece que de todos los alimentos sacados de plantas cultivadas, los derivados de la mandioca fueron los más genuinamente y los más generalmente guaraníes” (Bertoni, 1927). En el presente estudio se mencionaron la presencia de cuatro variedades locales: *mandi’o kano*, *mandi’o jeruti*, *mandi’o pomberi* y *mandi’o pytã (conche)*, las tres últimas igualmente fueron registradas por Martínez Crovetto (1968b).

Otras especies cultígenas y variedades respectivas registradas en este trabajo fueron: batata (*Ipomoea batatas*), poroto o *kumanda* (*Vigna unguiculata*), calabaza o *andai* (*Cucurbita moschata*), zapallo (*Cucurbita maxima*), cebolla o *sevói* (*Allium cepa*), cebolla de hoja o *sevói hogue* (*Allium fistulosum*), locote picante o *ky’yi pytã’i* (*Capsicum* sp.), tabaco o *petÿ* (*Nicotiana tabacum*), porongo o *ka’ygua* (*Lagenaria siceraria*), mani o *manduvi* (*Arachis hypogaea*), caña de *takuare’ẽ* (*Saccharum officinarum*) y *takuare’ẽ avachi* (*Sorghum saccharatum*).

Todas éstas, excepto la última, coinciden con los registros de Martínez Crovetto (1968a y b) y otros autores (Bertoni, 1927; Keller, 2007; Alcaraz, 2004). Las especies cultígenas citadas en su mayoría son de origen exótico (especies registradas de larga data) las cuales fueron introducidas en su mayoría hace siglos a la alimentación tradicional de los guaraníes, esto puede constatarse mediante registros realizados por botánicos como Moisés Bertoni y Martínez Crovetto, entre otros (Bertoni, 1927; Martínez Crovetto, 1968a y b).

Los nativos locales luego de las cosechas guardan las semillas de sus cultivos tradicionales hasta la próxima siembra. El intercambio de semillas solo puede darse entre una familia y otra de una

misma comunidad o entre familias de diferentes comunidades del mismo grupo étnico. Este comportamiento cultural influye en el mantenimiento de las variedades locales, constituyéndose unidades de conservación de recursos fitogenéticos propios. La conservación de estos recursos y sus parientes silvestres responden a una necesidad urgente por conservar el acervo genético y la seguridad alimentaria del país y la región (Mereles *et al.*, 2013).

Diversidad de especies vegetales presentes versus conocimiento tradicional de las especies vegetales alimenticias

Se cuenta con importantes contribuciones sobre la biodiversidad presente en la reserva San Rafael, por citar algunas se encuentran: De Egea & Balbuena, 2011; Cartes & Yanosky, 2006; Horton, 2008; Esquivel *et al.*, 2007 entre otras. Con respecto a los estudios de flora realizada en el área se encuentran varios, entre ellas la Evaluación Ecológica Rápida - EER de la Secretaria del Ambiente – SEAM, Paraguay (SEAM, 2002). Este estudio presentó el mayor número de plantas registradas para la reserva, un total de 322 especies vasculares (4,6 % de la flora del Paraguay y 7,2 % de la flora de la región oriental). A partir de los listados de especies obtenidos se identificaron los usos mediante registros presentes en las diferentes fuentes bibliográficas regionales y algunas entrevistas locales en la zona de Caazapá (Quintana com. pers., 2015). Se hallaron citas de 169 especies vegetales de importancia económica de uso popular e indígena, el cual corresponde al 52,4 % del total de las especies consideradas (SEAM, 2002). Haciendo una comparación general entre el trabajo de SEAM (2002) y el

Dujak, M. et al. Especies vegetales alimenticias de los Mbyá-Guaraní

actual estudio se encontró una similitud de 48 especies (14,9 %). Con respecto a las especies de uso alimenticio (comestible) SEAM (2002) registró la presencia de 38 especies vs. 46 obtenidas por recolección en los bosques, caminos y áreas circundantes a las comunidades. Se encontró una similitud en 19 especies de plantas alimenticias; 18 especies citadas exclusivas en SEAM (2002) y 27 especies citadas exclusivas en este estudio y ausentes en SEAM (2002). A continuación se citan tales especies: *Allophylus edulis*, *Annona cacans*, *A. squamosa*, *Campomanesia guazumifolia*, *C. pubescens*, *Carica papaya*, *Cedrela fissilis*, *Citrus nobilis*, *Citrus sinensis*, *Dichorisandra hexandra*, *Dolichandra unguis-cati*, *Eugenia uniflora*, *Ilex paraguariensis*, *Inga marginata*, *Lantana trifolia*, *Lippia brasiliensis*, *Melicoccus lepidopetalus*, *Miltonia flavescens*, *Morus alba*, *Musa paradisiaca*, *Plinia trunciflora*, *Passiflora* sp., *Peperomia circinnata*, *Piper regnellii*, *Rubus hassleri*, *Scoparia dulcis* y *Talinum paniculatum*. Las especies *Carica papaya*, *Citrus nobilis*, *Citrus sinensis*, *Morus alba* y *Musa paradisiaca* son especies exóticas de cultivo popular, y se encuentran también generalmente en áreas peridomiciliarias y caminos. Estas especies por su adaptación a las condiciones naturales aparecen espontáneamente en dichas áreas. En relación a las novedades en cuanto a especies nativas alimenticias se resaltan algunas no citadas en las contribuciones antes mencionadas, como ser *Miltonia flavescens*, *Dichorisandra hexandra* y *Lantana trifolia*.

En SEAM (2002) se indican cinco especies comestibles consumidas por animales (*Jacaratia spinosa*, *Cecropia*

pachystachya, *Guarea kunthiana*, *Guarea macrophylla* ssp. *spicaeflora*, *Campomanesia xanthocarpa*). En la investigación se hace referencia al consumo de los frutos de *Jacaratia spinosa* (cocido) y *Campomanesia xanthocarpa* (crudo) y la corteza triturada de *Guarea macrophylla* ssp. *Spicaeflora* como saborizante y refrescante del tereré.

Las especies *Celtis pubescens*, *Chrysophyllum marginatum*, *Merostachys clauseni*, *Trema micrantha* citadas en SEAM (2002) fueron mencionadas como comestibles. En el actual estudio se detectaron tales especies sin embargo no fueron indicadas como comestibles, más bien como alimento de animales silvestres. Con respecto a las especies *Guazuma ulmifolia*, *Schefflera morototoni* y *Solanum granuloso-leprosum*, indicadas como comestibles (SEAM, 2002) no fueron encontradas en el área de estudio.

Es frecuente encontrar investigaciones que citan a ciertas especies vegetales como comestibles sin embargo probablemente en ciertos casos podría prestarse a confusión el término “plantas comestibles” sin especificar si son consumidas por el hombre o animales.

CONCLUSIONES

Se determinaron 100 especies vegetales vinculadas a la alimentación en las dos comunidades Mbyá - Guaraní estudiadas. La alimentación se sostiene principalmente en dos actividades, la recolección del entorno natural y la agricultura; 74 especies son obtenidas por recolección y 34 especies a partir de los cultivos.

Las especies utilizadas corresponden en su mayoría a plantas nativas de uso tradicional (67 especies) y de distribución

natural en el BAAPA; 69 especies vegetales (69%) son comestibles siendo la categoría alimenticia la de mayor frecuencia. Los órganos o partes vegetales más aprovechados son los frutos (46 especies), distribuidos ampliamente en los bosques y otras áreas circundantes.

Las plantas silvestres son recolectadas en distinto momentos de las jornadas diarias, cerca de la casa, en caminatas o en los viajes a otras comunidades. Éstas constituyen un suministro para los cazadores (hombres) los cuales se abastecen de estos recursos en sus largas caminatas en busca de animales silvestres, *mymba ka'a guy*. La recolección es una actividad de hombres y mujeres, para los niños a partir de temprana edad la experimentación con los frutos representa una actividad exploratoria y lúdica sobre los recursos de su entorno.

Un aporte interesante de esta contribución es el registro de *Dichorisandra hexandra* (*kyryu*) cuyas raíces tuberosas según entrevistas realizadas constituyen un alimento específico para la mujer lactante y el niño debido a sus propiedades nutritiva y galactógena. Martínez Crovetto (1968a) quien trabajó con grupos Mbyá - Guaraní no hizo mención de esta especie, Keller (2007) registró la misma mencionando otros usos (mágicos y medicinales). Realizar estudios sistemáticos sobre recursos silvestres alimenticios en Paraguay constituye un aporte al conocimiento tradicional sobre nuestros recursos filogenéticos (RRFF). Cabe resaltar a las especies cultígenas tradicionales Mbyá - Guaraní, si bien estas corresponden en su mayoría a especies exóticas del Paraguay tales presentan variedades cultígenas propias y diversas

que forman parte de la riqueza de los RRFF del Paraguay.

AGRADECIMIENTOS

A las comunidades Mbyá Guaraní Arroyo Morotí y Pindoí de San Rafael y sus representantes Eusebio Chaparro, Mario Britez y Florencio Peña por transmitirnos los valiosos conocimientos sobre sus recursos. A la Itaipú Binacional - Paraguay por la beca de maestría concedida, a la AECID y PROCOSARA a través del proyecto 11-CAP2-1434 y sus coordinadores Dr. Salvador Peris y Dr. Alberto Esquivel por el apoyo en los trabajos de campo iniciales. A Pastor Arenas por la sugerencia en el plan de trabajo, a Frederick Bauer por el asesoramiento, a Laura Rodríguez por el mapa elaborado, a Marcela Matiauda por la ayuda en campo, al equipo y herbario del IBONE por la ayuda prestada y a Anselmo Cantero educador de la escuela indígena Pindoí por la ayuda constante en campo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcaraz, A. F. 2004. Mbya Rembi'u'ete'i. Recetas de Comidas Tradicionales Mbyá. Oguasú. Asunción. 50p.
- Aona-Pinheiro, L. Y. S.; Bittrich, V. & M. C. E. Amaral. 2014. Two new species of *Dichorisandra* (Commelinaceae) from Rio de Janeiro and comments on the two species included in Vellozo's "Flora Fluminensis". *Phytotaxa* 184 (4): 223-294.
- Bertoni, M. 1927. La civilización Guaraní. Parte III: Conocimientos. La higiene guaraní y su importancia científica y práctica. La medicina guaraní.

Dujak, M. et al. Especies vegetales alimenticias de los Mbyá-Guaraní

- Conocimientos Científicos. Ex Sylvis, Alto Paraná. 531p.
- Brighenti, C. A. 2005. Necessidade de Novos Paradigmas Ambientais. Implicações e Contribuição Guaraní. Cadernos PROLAM/USP 4(2): 33-56.
- Cartes, J. L. & A. Yanosky. 2006. El Estado del "Hotspot" Bosque Atlántico: una visión general. En: Cartes, J.L. (Ed.). El Bosque Atlántico en Paraguay, Biodiversidad, Amenazas y Perspectivas. State of Hotspot Series. Conservation Internacional-Center for Applied Biodiversity Science – Guyra Paraguay, Asunción. pp. 31-33.
- CDC, 1990. Áreas Prioritarias para la Conservación de la Región Oriental del Paraguay. Centro de Datos para la Conservación. Subsecretaria de Recursos Naturales y Medio Ambiente. Asunción.
- Céspedes, G.; E. Weber & G. González. 2008. Especies Útiles de la Flora Paraguaya: Frutos Comestibles. Asociación Etnobotánica Paraguaya. Asunción. 55p.
- Crisci, J.V. 2001. La biodiversidad como recurso vital de la humanidad. Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Tomo LV. Buenos Aires. 256-269.
- Crisci, J.V. 2006. Espejos de nuestra época: biodiversidad, sistemática y educación. Gayana Bot. 63(1): 106-114.
- Correa De Báez, M.; Genes, I.; Agüero, M.E. & Patricia E. Medina. 2010. Consultor Práctico. Diccionario de la Lengua Guaraní Arami. Paraguay. Editorial Arami. 578 p.
- De Albuquerque, U.P.; Farias De Paiva Lucena, R. & N.Leal Alencar. 2010. En: De Albuquerque, U.P. (Ed.). Métodos e Técnicas na Pesquisa Etnobiológica e Etnoecológica. NUPEEA. Recife. pp. 39-64.
- De Egea, J. Y C. Balbuena. 2011. Adopción de los Criterios de Altos Valores de Conservación de Recursos Naturales en la Reserva San Rafael. WWF – Guyra Paraguay. Asunción. 130p.
- Dimitri, J.M. & E. N. Orfila. 1985. Tratado de Morfología y Sistemática Vegetal. Buenos Aires. Editorial Acme. S.A.C.I. 489p.
- Esquivel, A.; Velazquez, M. C.; Bodrati, A.; Fraga, R.; Del Castillo, H.; Klavins, J.; Clay, R.; Madroño, A. & Peris, S. 2007. Status of the avifauna of San Rafael National Park, one of the last large fragments of Atlantic Forest in Paraguay. Bird Conserv. Int. 17:301–317.
- Fragano, F. & R. Clay. 2006. Biodiversidad en el Bosque Atlántico del Alto Paraná de Paraguay. En: Cartes, J.L. (Ed.). El Bosque Atlántico en Paraguay, Biodiversidad, Amenazas y Perspectivas. State of Hotspot Series. Conservation Internacional-Center for Applied Biodiversity Science – Guyra Paraguay, Asunción. pp. 61-87.
- Galindo Leal, C. & I. De Gusmão Câmara. 2006. El Estado del "Hotspot" Bosque Atlántico: una visión general. En: Cartes, J.L. (Ed.). El Bosque Atlántico en Paraguay, Biodiversidad, Amenazas y Perspectivas. State of Hotspot Series. Conservation Internacional-Center for Applied Biodiversity Science - Guyra Paraguay, Asunción. pp. 3-12.
- Giménez Castillo, R.M. 2012. Ecosistemas Sociales del Tekoha Arroyo Morotí del Pueblo Mbya Guaraní Distrito Alto Verá, Itapúa. Tesis (Ing. Ecol.

- Humana). San Lorenzo, PY: Carrera de Ecología Humana. FCA-UNA. 85p.
- Hurrell, J.A.; Ulibarri, E.A.; Delucchi, G. & M.L. Pochettino. 2010. Frutas Frescas, Secas y Preservadas. (Colección Biota Rioplatense, Volumen XV). LOLA. Buenos Aires. 304p.
- Keller, H. 2007. Etnobotánica de Comunidades Guaraníes de Misiones, Argentina; Valoración de la Vegetación como Fuente de Recursos. Tesis (Doctorado). Corrientes, AR: FCA, UNNE. 283p.
- Lehner, B.; Florentín, A.; Vargas, F. & A.L. Giménez. 2012. Ñande kuaapy tee: Un Rescate de los Saberes y Tecnologías Ancestrales de la Agricultura Guaraní. MAG/ACH. Asunción. 36p.
- Martin, G. 2001. Etnobotánica. Pueblos y Plantas. Manual de Conservación. Montevideo. 240p.
- Martínez Crovetto, R. 1968a. La Alimentación entre los Indios Guaraníes de Misiones (República Argentina). *Etnobiológica* 4: 1-24.
- Martínez Crovetto, R. 1968b. Notas sobre la Agricultura de los Indios Guaraníes de Misiones (República Argentina). *Etnobiológica* 10: 1-11.
- Mereles H., M. F.; Céspedes G. & Juana De Egea. 2013. El estado de conservación de los recursos fitogenéticos en Paraguay. II. El registro de los parientes silvestres de las especies con importancia económica en los herbarios nacionales. *Steviana* 5: 41-68.
- Mittermeier, R.A.; Myers, N. & C. Goetsch Mittermeier. 1999. Biodiversidad Amenazada: Las Ecorregiones Terrestres Prioritarias del Mundo. CEMEX/Conservación Internacional. México. 430p.
- Morales, R.; Tardío, J.; Aceituno, L.; Molina, M. & M. Pardo De Santayana. 2011. Biodiversidad y Etnobotánica en España. *Memorias R. Soc. Esp. Hist. Nat.* 9 (2): 157-207.
- RAE. 2001. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española, 22da. ed. Disponible: <www.rae.es> [Consulta: 08-V-2015].
- SEAM (Secretaría del Ambiente). 2002. *Evaluación Ecológica Rápida; Reserva San Rafael*. Secretaría del Ambiente, Dirección General de Protección y Conservación de la Biodiversidad, Proyecto PAR/94/001/PNUD/DINCAP/MAG. Paraguay.
- Spichiger, R.; Palese, R.; Chautems, M. & L. Ramella. 1995. Origin, Affinities and Diversity Hotspots of the Paraguayan Dendrofloras. *Candollea*. 50 (2): 517-537.
- Thomas, E.; Vandebroek, I. & P. Van Damme. 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.
- Zanardini, J. & W. Bierdermann. 2006. Los Indígenas del Paraguay. 2ª ed. Itaipú Binacional. Asunción. 360p.

Dujak, M. et al. Especies vegetales alimenticias de los Mbyá-Guaraní

Anexo: Listado de especies vinculadas a la alimentación

Nombres científicos	Nombre mbyá	Otros nombres	Familia	Origen	Uso	Parte útil	Modo de obtención	Material testigo
<i>Allium cepa</i> L.	<i>sevóí</i>	cebolla	Amaryllidaceae	ex	Al	bulbo (hojas)	Cul	
<i>Allium fistulosum</i> L.	<i>sevóí hogue</i>	cebollita de hoja	Amaryllidaceae	ex	Al	hoja	Cul	
<i>Annona squamosa</i> L.	<i>aratiku</i>	<i>Aratiku</i> / chirimoya	Annonaceae	ex	Al	fruto	Rec	Dujak, M. 027; Dujak, M. 155
<i>Annona cacans</i> Warm.	<i>aratiku guasu</i>	<i>aratiku</i> /chirimoya	Annonaceae	na	Al	fruto	Rec	Dujak, M. 024
<i>Coriandrum sativum</i> L.	<i>kuratu</i>	<i>kuratu</i> , coriandro	Apiaceae	ex	Al	hoja	Cul	Dujak, M. 076
<i>Daucus carota</i> L.	zanahoria	zanahoria	Apiaceae	ex	Al	raíz	Cul	
<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.	<i>ka´a</i>	yerba mate	Aquifoliaceae	na	Al	hoja	Rec/ cul	Dujak, M. 90; Dujak, M. 145
<i>Philodendron bipinnatifidum</i> Schott	<i>guembe</i>	<i>guembe</i>	Araceae	na	al, ut, ca, pe	fruto, tallo:corteza, raíz	Rec	Dujak, M. 002
<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart.	<i>mbokaja</i>	palmera, coco	Areceaceae	na	Al	fruto,semilla, raíz, tallo:estípite	Rec	Dujak, M. 029
<i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman	<i>pindo</i>	<i>pindo</i>	Areceaceae	na	al, ca	fruto, tallo: estípite, cogollo	Rec	Dujak, M. 028; Dujak, M. 151
<i>Dolichandra unguis-cati</i> (L.) L.G. Lohmann	<i>yvy´a</i>	<i>mbarakaja pyape</i>	Bignoniaceae	na	Al	raíz	Rec	Dujak, M. 096

Steviana, Vol. 7, 2015

Nombres científicos	Nombre mbyá	Otros nombres	Familia	Origen	Uso	Parte útil	Modo de obtención	Material testigo
<i>Cordia americana</i> (L.) Gottschling & J.S. Mill.	<i>guajaivi</i>	<i>guajaivi</i>	Boraginaceae	na	ut,co	tallo	Rec	
<i>Bromelia</i> sp.	<i>karaguata</i>	<i>Karaguata</i>	Bromeliaceae	na	Al	fruto	Rec	
<i>Canna glauca</i> L.	<i>peguao</i>		Cannaceae	na	Ut	hoja	Rec	Dujak, M. 073
<i>Carica papaya</i> L.	<i>mamone</i>	mamón	Caricaceae	ex	Al	fruto	Rec/cul	Dujak, M. 015
<i>Jacaratia spinosa</i> (Aubl.) A. DC.	<i>jarakati'a</i>	<i>jakarati'a</i> , mamone	Caricaceae	na	Al	fruto	Rec	Dujak, M. 150
<i>Rheedia brasiliensis</i> (Mart.) Planch. & Triana	<i>pakuri</i>	<i>pakuri</i>	Clusiaceae	na	Al	fruto	Rec	
<i>Dichorisandra hexandra</i> (Aubl.) Standl.	<i>kyrÿu</i>	<i>karachi</i>	Commelinaceae	na	Al	raiz	Rec	Dujak, M. 93 ; Dujak, M. 100
<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	<i>jety</i>	batata, <i>jety</i>	Convolvulaceae	ex	Al	raíz	Cul	Dujak, M. 109
<i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	<i>sándia</i>	sandia	Cucurbitaceae	ex	Al	fruto	Cul	Dujak, M. 131
<i>Cucumis melo</i> L.	<i>mero</i>	melón	Cucurbitaceae	ex	Al	fruto	Cul	
<i>Cucurbita maxima</i> Duchesne	zapallo, <i>kurapepe</i>	zapallo	Cucurbitaceae	ex	Al	fruto	Cul	
<i>Cucurbita moschata</i> (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poir	<i>andai</i>	calabaza	Cucurbitaceae	ex	Al	fruto	Cul	Dujak, M. 111
<i>Lagenaria siceraria</i> (Molina) Standl.	<i>kay'gua</i>	porongo	Cucurbitaceae	ex	Ut	fruto	Cul	Dujak, M. 138

Dujak, M. et al. Especies vegetales alimenticias de los Mbyá-Guaraní

Nombres científicos	Nombre mbyá	Otros nombres	Familia	Origen	Uso	Parte útil	Modo de obtención	Material testigo
<i>Dioscorea</i> aff. <i>dodecaneura</i> Vell.	<i>karachi chi</i> , <i>karachi moroti</i>	<i>karachi</i>	Dioscoreaceae	na	Al	Tallo (Tubérculo)	Rec	Dujak, M. 128; Dujak, M. 140
<i>Manihot esculenta</i> Crantz	<i>mandi' o</i>	mandioca	Euphorbiaceae	ex	Al	raíz	Cul	
<i>Actinostemon concolor</i> (Spreng.) Müll. Arg.	<i>yvyra hũ</i>	<i>yvyra hũ</i>	Euphorbiaceae	na	Ca	tallo	Rec	Dujak, M. 057; Dujak, M. 081
<i>Sebastiania commersoniana</i> (Baill.) L.B. Sm. & Downs	<i>yvyra piriri</i>		Euphorbiaceae	na	Pe	fruto	Rec	Dujak, M. 053
<i>Arachis hypogaea</i> L.	<i>manduvi</i>	maní	Fabaceae	ex	Al	semilla	Cul	Dujak, M. 121; Dujak, M. 123
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>habilla</i>	habilla	Fabaceae	ex	Al	semilla	Cul	Dujak, M. 072
<i>Vigna radiata</i> (L.) R. Wilczek	<i>kumanda sa' i</i>	poroto mung	Fabaceae	ex	Al	semilla	Cul	Dujak, M. 132
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.	<i>kumanda ñu</i>	kumanda/ poroto	Fabaceae	ex	Al	semilla	Cul	Dujak, M. 108; Dujak, M. 154
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.	<i>kumanda hovy</i>	Kumanda / poroto	Fabaceae	ex	Al	semilla	Cul	Dujak, M. 133; Dujak, M. 134

Steviana, Vol. 7, 2015

Nombres científicos	Nombre mbyá	Otros nombres	Familia	Origen	Uso	Parte útil	Modo de obtención	Material testigo
<i>Calopogonium sericeum</i> (Benth.) Chodat & Hassl.	<i>jagua chimbo</i>		Fabaceae	na	Pe	raíz	Rec	Dujak, M. 094
<i>Holocalyx balansae</i> Micheli	<i>vyvra pepe</i>	alecrín	Fabaceae	na	co, ut, al	tallos, madera	Rec	Dujak, M. 001
<i>Inga marginata</i> Willd.	<i>inga ï</i>	<i>inga ï</i>	Fabaceae	na	al,co	fruto, tallo	Rec	Dujak, M. 022
<i>Inga uraguensis</i> Hook. & Arn.	<i>inga guasu</i>	<i>inga pyta</i>	Fabaceae	na	al,co	fruto, tallo	Rec	Dujak, M. 023; Dujak, M. 156
<i>Myrocarpus frondosus</i> Allemão	<i>vyvra paje</i>	incienso	Fabaceae	na	co,ca	tallos, exudado	Rec	Dujak, M. 148
<i>Zornia cryptantha</i> Arechav.	<i>pira ka'á</i>		Fabaceae	na	mág,pe	parte aérea	Rec	Dujak, M. 099
<i>Origanum vulgare</i> L.	oregano	oregano	Lamiaceae	ex	Al	hoja	Cul	
<i>Nectandra lanceolata</i> Nees & Mart.	<i>aju'ý</i>	laurel <i>say'ju</i>	Lauraceae	na	Co	tallos	Rec	Dujak, M. 095
<i>Ocotea pulchela</i> (Nees & Mart.) Mez	<i>aju'ý miri</i>	<i>aju'ý</i>	Lauraceae	na	Co	tallos	Rec	Dujak, M. 125
<i>Maranta sobolifera</i> L. Andersson	<i>peguao, mbesy</i>		Marantaceae	na	Ut	hoja	Rec	Dujak, M. 039; Dujak, M. 091
<i>Cedrela fissilis</i> Vell.	<i>ygary, yvary</i>	<i>ygary, cedro</i>	Meliaceae	na	Al	corteza	Rec	Dujak, M. 034
<i>Guarea kunthiana</i> A. Juss.	Cedrillo/cerillo <i>guasú</i>	<i>yrupẽ rupa</i>	Meliaceae	na	ut,co	tallos	Rec	Dujak, M. 018

Dujak, M. et al. Especies vegetales alimenticias de los Mbyá-Guaraní

Nombres científicos	Nombre mbyá	Otros nombres	Familia	Origen	Uso	Parte útil	Modo de obtención	Material testigo
<i>Guarea macrophylla</i> Vahl	cedrillo	<i>mborevi rembiu</i>	Meliaceae	na	Al	tallo, corteza	Rec	Dujak, M. 020
<i>Morus alba</i> L.	mora	Mora	Moraceae	ex	Al	fruto	Rec/cul	Dujak, M. 077
<i>Maclura tinctoria</i> var. <i>tinctoria</i> (L.) Steud.	<i>tatajyva</i> , <i>mora ka'á guy</i>	<i>tatajyva</i>	Moraceae	na	al, ut	fruto, tallo	Rec	Dujak, M. 013
<i>Sorocea bonplandii</i> (Baill.) W.C. Burger, Lanj. & Wess. Boer	<i>ñandyta</i>	<i>ñandypa'í</i>	Moraceae	na	ut	tallo	Rec	Dujak, M. 059
<i>Musa paradisiaca</i> L.	<i>pakova</i>	banana	Musaceae	ex	al	fruto	Rec/cul	
<i>Myrsine balansae</i> (Mez) Otegui	<i>apere'á ka'á</i>		Myrsinaceae	na	co	tallo	Rec	Dujak, M. 069
<i>Myrsine umbellata</i> Mart.	<i>yvyraro</i>	<i>kandelon pytã</i>	Myrsinaceae	na	pe	tallo	Rec	
<i>Psidium guajava</i> L.	<i>arasa</i>	guayaba	Myrtaceae	ex	al	fruto	Rec	Dujak, M. 016
<i>Campomanesia guazumifolia</i> (Cambess.) O. Berg	<i>ñandu apysa</i>	<i>ñandu apysa</i>	Myrtaceae	na	al	fruto	Rec	Dujak, M. 030; Dujak, M. 129
<i>Campomanesia pubescens</i> (DC.) O. Berg	<i>teju ka'á</i> , <i>guavira miri</i>	<i>guavirami</i>	Myrtaceae	na	al	fruto	Rec	
<i>Campomanesia xanthocarpa</i> O. Berg	<i>guavira</i>	<i>guavira pytã</i>	Myrtaceae	na	al,co	fruto, tallo	Rec	Dujak, M. 052
<i>Eugenia uniflora</i> L.	<i>ñangapiry</i>	<i>ñangapiry</i>	Myrtaceae	na	al	fruto	Rec	

Steviana, Vol. 7, 2015

Nombres científicos	Nombre mbyá	Otros nombres	Familia	Origen	Uso	Parte útil	Modo de obtención	Material testigo
<i>Hexachlamys edulis</i> (O. Berg) Kausel & D. Legrand	yvahái	yvahái	Myrtaceae	na	al	fruto	Rec	Dujak, M. 107
<i>Myrcianthes pungens</i> (O. Berg) D. Legrand	yvaviju	guaviju	Myrtaceae	na	al	fruto	Rec	
<i>Plinia trunciflora</i> (O. Berg) Kausel	yvapuruĩ	yvapuruĩ	Myrtaceae	na	al	fruto	Rec	
<i>Plinia rivularis</i> (Cambess.) Rotman	yvaporoiity	guaporoiity	Myrtaceae	na	al,ca,ut	fruto, tallo	Rec	Dujak, M. 056 ; Dujak, M. 120
<i>Miltonia flavescens</i> Lindl.	Akuchipoi	orquidea	Orchidaceae	na	al	hoja	Rec	
<i>Passiflora</i> sp.	mburukuja	mburukuja	Passifloraceae	na	al	fruto	Rec	
<i>Sesamum indicum</i> L.	sésamo	sésamo	Pedaliaceae	ex	comercio	semilla	Cul	Dujak, M. 122; Dujak, M. 135
<i>Peperomia circinnata</i> Link	jatevu ka´a/ ra´i	jatevu ka´a	Piperaceae	na	al	completa, hoja	Rec	Dujak, M. 149
<i>Piper regnellii</i> (Miq.) C. DC.	jaguarundi	jaguarundi	Piperaceae	na	al	hoja	Rec	
<i>Scoparia dulcis</i> L.	typycha kuratu		Plantaginaceae	na	al	planta completa, hoja	Rec	Dujak, M. 04
<i>Oryza sativa</i> L.	arroz secano	arroz secano	Poaceae	ex	al	fruto	Cul	
<i>Saccharum officinarum</i> L.	takuare´ẽ	caña de azucar	Poaceae	ex	al	tallo	Cul	

Dujak, M. et al. Especies vegetales alimenticias de los Mbyá-Guaraní

Nombres científicos	Nombre mbyá	Otros nombres	Familia	Origen	Uso	Parte útil	Modo de obtención	Material testigo
<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench var. <i>technicum</i> (Körn.) Stapf ex Holland	sorgo	sorgo	Poaceae	ex	forr	fruto	Cul	Dujak, M. 141
<i>Sorghum saccharatum</i> (L.) Moench	<i>takuare'ẽ avachi</i>		Poaceae	ex	al	tallo	Cul	Dujak, M. 143
<i>Zea mays</i> L.	<i>avati</i>	avati, maiz	Poaceae	ex	al	fruto	Cul	Dujak, M. 026
<i>Chusquea ramosissima</i> Lindm.	<i>takuarembo</i>	<i>takuarembo</i>	Poaceae	na	ut,ca	tallo	Rec	Dujak, M. 113; Dujak, M. 074
<i>Guadua</i> sp.	<i>jatevo</i>	<i>jatevo</i>	Poaceae	na	pe	tallo	Rec	
<i>Lasiacis divaricata</i> (L.) Hitchc. var. <i>austroamericana</i> Davidse	<i>takuapi</i>	tacuara	Poaceae	na	ut,pe	tallo	Rec	Dujak, M. 040
<i>Merostachys clausenii</i> Munro	<i>takuapi</i>	<i>takuapi</i>	Poaceae	na	ut,pe	tallo	Rec	Dujak, M. 116
<i>Talinum paniculatum</i> (Jacq.) Gaertn.	<i>ka'á ruru</i>		Portulacaceae	na	al	raiz	Rec	Dujak, M. 124
<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	hovenia	hovenia	Rhamnaceae	ex	al	fruto	Rec/cul	Dujak, M. 079
<i>Rubus hassleri</i> Chodat	<i>tembia'ja</i>	frambuesa silvestre	Rosaceae	ex	al	fruto	Rec	Dujak, M. 075
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	naranja <i>ka'aguy</i>	naranja	Rutaceae	ex	al,ca	fruto	Rec/cul	Dujak, M. 103; 061

Steviana, Vol. 7, 2015

Nombres científicos	Nombre mbyá	Otros nombres	Familia	Origen	Uso	Parte útil	Modo de obtención	Material testigo
<i>Citrus nobilis</i> Lour.	mandarina	mandarina	Rutaceae	ex	al	fruto	Rec/cul	Dujak, M. 153
<i>Citrus x limon</i>	limo	limón	Rutaceae	ex	al	fruto	Cul	
<i>Citrus aurantium</i> L.	aepu	aepu, naranja hai	Rutaceae	ex	al, ut,co	hoja, fruto, tallo	Rec	Dujak, M. 003
<i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engl.) Engl.	yvyra ñeti	guatambu	Rutaceae	na	co,ca	tallo	Rec	Dujak, M. 065
<i>Helietta apiculata</i> Benth.	yvyra ovi	yvyra ovi	Rutaceae	na	co,ca,pe	tallo, leño	Rec	Dujak, M. 98; Dujak, M. 148
<i>Allophylus edulis</i> (A.St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron. ex Niederl.	kokū	kokū	Sapindaceae	na	al	fruto, hoja	Rec	Dujak, M. 078
<i>Diatenopteryx sorbifolia</i> Radlk.	yvyra pora	yvyra piu	Sapindaceae	na	co	tallo	Rec	Dujak, M. 068
<i>Melicoccus lepidopetalus</i> Radlk.	yvapovō	yvapovō	Sapindaceae	na	al	fruto	Rec	
<i>Thinouia compressa</i> Radlk.	ysypo chimbo	ysypo timbo	Sapindaceae	na	pe	tallo	Rec	
<i>Thinouia mucronata</i> Radlk.	ysypo chimbo	ysypo timbo	Sapindaceae	na	pe	tallo	Rec	
<i>Thinouia paraguayensis</i> (Britton) Radlk.	ysypo chimbo	ysypo timbo	Sapindaceae	na	pe	tallo	Rec	

Dujak, M. et al. Especies vegetales alimenticias de los Mbyá-Guaraní

Nombres científicos	Nombre mbyá	Otros nombres	Familia	Origen	Uso	Parte útil	Modo de obtención	Material testigo
<i>Chrysophyllum gonocarpum</i> (Mart. & Eichler) Engl.	aguai	aguai	Sapotaceae	na	al,co	fruto, tallo	Rec	Dujak, M. 054
<i>Chrysophyllum marginatum</i> (Hook. & Arn.) Radlk.	pykasu rembi´u		Sapotaceae	na	co	tallo	Rec	Dujak, M. 067
<i>Capsicum annum</i> L.	locote	locote	Solanaceae	ex	al	fruto	Cul	
<i>Capsicum</i> sp.	ky´ỹi/ky´ỹi pyta´i	locote picante	Solanaceae	ex	al	fruto	Rec/cul	Dujak, M. 112; Dujak, M. 127
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	petỹ	tabaco	Solanaceae	ex	al, (fu)	hoja	Cul	
<i>Solanum lycopersicum</i> L.	tomate	tomate	Solanaceae	ex	al	fruto	Cul	
<i>Luehea candicans</i> Mart.	ka´a oveti	ka´a oveti	Tiliaceae	na	co	tallo	Rec	
<i>Luehea divaricata</i> Mart.	ysongy	ka´a oveti	Tiliaceae	na	co	tallo	Rec	Dujak, M. 010
<i>Lantana trifolia</i> L.	aguara yva´y		Verbenaceae	na	al	fruto	Rec	Dujak, M. 139
<i>Lippia brasiliensis</i> (Link) T. Silva	jatei ka´a ka´aguy		Verbenaceae	na	al	parte aérea, hoja	Rec	Dujak, M. 097

Referencias: Com 1: Arroyo Morotĩ, Com 2: Pindo´i, al:alimento, ca: material de caza, co: combustible-leña fu: fumatorias, pe: material de pesca, ut: utensilios, mág: amuleto de pesca, forr: forrajera, na: nativa, ex: exótica, rec: recolección, cul: cultivo.

Actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler por el método de captura del radical libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH●)

Martínez, M.¹; Mancuello, C.¹; Ramond, F.¹; Bednarczuk de Oliveira, V.²

¹Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales – Departamento de Biología – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Universidad Nacional de Asunción (UNA) - Paraguay

²Programa de Post-Graduación en Ciencias Farmacéuticas– Departamento de Farmacia – Universidad Federal de Paraná (UFPR) - Brasil

E mail del autor: miguelangelquimi@hotmail.com

Actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler por el método de captura del radical libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH●). Este trabajo describe el análisis *in vitro* del potencial antioxidante que presenta el extracto etanólico de la especie *Phoradendron bathyoryctum* Eichler, evaluado a través del método de captura del radical orgánico 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH●). Esta especie es utilizada como medicinal por la población paraguaya. La identificación botánica, así como el análisis morfoanatómico de la especie vegetal en estudio, fueron determinados en un trabajo anterior a éste por el equipo de investigación del autor principal del presente trabajo. Los ensayos *in vitro* demostraron que el extracto de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler posee la capacidad de captar el radical libre DPPH● de forma análoga al ácido ascórbico, utilizado como patrón de referencia. Aunque el poder neutralizante del extracto frente al radical DPPH● haya sido 36 veces menor comparado con el compuesto de referencia, demostró su poder antioxidante, lo que otorga al vegetal un valor agregado en el momento de ser consumido como medicinal por la población paraguaya. La IC₅₀ del extracto fue de 169 ± 1,0 µg frente a la IC₅₀ del ácido ascórbico cuyo valor calculado fue de 4,69 ± 0,03 µg. La capacidad de 50 µg de extracto vegetal de neutralizar el radical libre DPPH● fue del 39,7 ± 1,99% y finalmente se determinó que cada gramo de extracto de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler contiene un equivalente a 75.400 ± 3764 µg de ácido ascórbico.

Palabras clave: Ácido ascórbico (AA), DPPH●, IC₅₀, radical orgánico

***In vitro* antioxidant activity of ethanolic extract of *Phoradendron bathyoryctum* Eichler by the method of capture of the free radical 1,1-diphenyl-2-picryl-hidrazyl (DPPH●).** This paper describes the *in vitro* analysis of the antioxidant potential of the ethanolic extract of the species *Phoradendron bathyoryctum* Eichler, through the method of capturing the organic radical 1,1-diphenyl-2-picryl-hidrazyl (DPPH●). This species is used as a medicinal plant by the Paraguayan population. The botanical identification and the morphotoanatomical analysis of the plant were determined in a previous work by the research team of the main author of this work. The *in vitro* assays demonstrated the *Phoradendron bathyoryctum* Eichler extract's ability to capture the DPPH● free radical in a way analogous to ascorbic acid (AA), used as a standard for this study. Although the neutralizing power of the extract was 36 times lower than that of the standard used, its antioxidant power was still demonstrated, which adds value to it as a medicinal plant. The IC₅₀ of the extract was 169 ± 1.0 µg vs. the IC₅₀ of AA whose estimated value was 4.69 ± 0.03 µg. The capacity of 50 µg of plant extract to inhibit the free radical DPPH● was 39.7 ± 1.99%, and it was determined that each gram of extract of *Phoradendron bathyoryctum* Eichler contains an equivalent to 75,400 ± 3764 µg of ascorbic acid.

Keywords: Ascorbic acid (AA), DPPH●, IC₅₀, organic radical

INTRODUCCIÓN

Las especies oxigénicas reactivas (ROS), formadas metabólicamente como intermediarios parcialmente reducidos, son especies moleculares activadas, dotadas de un electrón desapareado (radical libre) en un nivel energético superior y por tanto dotadas de propiedades paramagnéticas que les confieren una alta e indiscriminada reactividad. Las ROS producen diversas acciones sobre el metabolismo de los principios inmediatos, que pueden ser el origen del daño celular. Actúan sobre los lípidos poliinsaturados de las membranas celulares, produciendo pérdida de fluidez y lisis celular como consecuencia de la peroxidación lipídica (PL); sobre los glúcidos, alterando las funciones celulares tales como las asociadas con la actividad de las interleuquinas y la formación de prostaglandinas, hormonas y neurotransmisores; sobre las proteínas produciendo inactivación y desnaturalización; sobre los ácidos nucleicos mediante la modificación de bases produciendo mutagénesis y carcinogénesis (Gonzales, 2001)

Gran interés se ha centrado en el papel de los radicales libres y estrés oxidativo (Ferreira y Matsubara, 1997) en la etiología de diversas enfermedades como las cardiovasculares, el cáncer, la aterosclerosis, la inflamación y envejecimiento (Yunes, 2001).

La actividad proporcionada por ciertos metabolitos secundarios se produce por la capacidad que tienen estos compuestos para neutralizar o eliminar los radicales libres, además de presentar propiedades redox, presentan estructuras con los anillos de conexión y grupos carboxilo capaces de inhibir la peroxidación de lípidos (Garg *et*

al., 2012).

Los antioxidantes son sustancias que disminuyen o retardan las reacciones de oxidación sobre diferentes sustratos y pueden ser naturales o sintéticos. El DPPH• (Fig. 1) es el radical libre orgánico utilizado para llevar a cabo el ensayo, cuya propiedad le permite cambiar de su color inicial violeta a otro final amarillo (Fig. 2) en la medida que va reaccionando con los compuestos que poseen caracteres antioxidantes, lo que se aprovecha para determinar dicha actividad espectrofotométricamente.

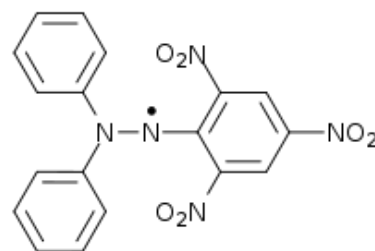


Fig. 1: Estructura química del radical orgánico libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH•)

El butilhidroxianisol (BHA), y el butil hidroxitolueno (BHT) son los antioxidantes sintéticos de mayor uso en la industria de alimentos y farmacéutica; sin embargo, se han encontrado efectos secundarios, como el aumento del colesterol, hepatomegalia e inducción de cáncer hepático, entre otras (Fuchs, 1998; Bush, 1998; Ito *et al.*, 1983); debido a esto, y a la creciente importancia de los antioxidantes en la industria farmacéutica y alimenticia es necesaria la búsqueda de moléculas alternativas de origen natural con gran actividad y que no tengan efectos citotóxicos, ni genotóxicos (Rojano, 2008a).

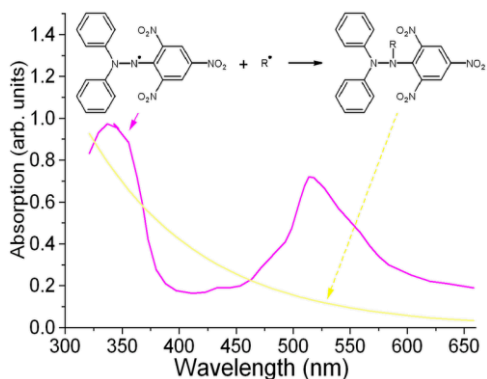


Fig. 2: Cambio de color del radical orgánico libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH●) cuando reacciona con compuestos con propiedades antioxidantes (Cowie 2008)

Los productos vegetales, son entonces una alternativa para usarlos como antioxidantes, ya que éstos poseen una variedad de compuestos como: antocianos, flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico entre otros que pueden ser inocuos para la salud y que además, actúan a bajas concentraciones. Muchos antioxidantes son usados en la industria de alimentos por su capacidad conservadora; porque, retardan el proceso de rancidez, disminuyen la posibilidad de generación de compuestos tóxicos, evitan la decoloración de los pigmentos, no permiten los cambios en la textura, disminuyen la pérdida de valor nutricional causada por la degradación de los ácidos grasos esenciales y por la destrucción de las vitaminas A, E y D, ya que éstos y sus derivados encontrados en fuentes naturales se consideran como nutraceuticos (Parr y Bolwell 2000); (Benjamín Rojano. 2008)

La industria química en las áreas farmacéuticas y de alimentos, consideran que el crecimiento del mercado de los antioxidantes requiere de la educación

apropiada del consumidor y de investigaciones científicas pertinentes. Los estudios deben estar dirigidos a la búsqueda de compuestos puros o extractos activos como nuevas fuentes antioxidantes; y que a su vez, deben focalizarse hacia los beneficios que producen los antioxidantes en la salud de modo preventivo (Cornelli 2009).

La familia Viscaceae comprende 8 géneros con 450 especies. En la Argentina vive 1 género con 13 especies, 2 endémicas (Zuloaga y Morrone, 1999), alrededor de 60 a 70 géneros y cerca de 700 especies de distribución tropical y subtropical, especialmente en el hemisferio Sur (Cronquist, 1981).

La especie vegetal *Phoradendron bathyoryctum* Eichler (Viscaceae) consumida como medicinal por la población paraguaya es el objetivo de este nuevo estudio, el cual se enfocó a evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico obtenido a partir de sus hojas y ramas, con el propósito de conocer aún más sobre las propiedades de esta especie medicinal nativa del Paraguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales - Área Química Orgánica de los Productos Naturales del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción.

Material de estudio

Equipos

Espectrofotómetro UV-Vis modelo SHIMADZU serie 160 A. Vórtex HUMAN modelo Huma Twist GmbH.

Reactivos químicos

Metanol grado p.a. (Merck); Ácido ascórbico anhidro 99,0% (Merck) y el radical libre DPPH• (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) (Sigma-Aldrich).

Materiales biológicos

La especie vegetal estudiada fue colectada en el distrito de Yukyty de la ciudad de Areguá del Departamento Central con coordenadas geográficas 25°19'39.26"S, 57°25'26.43"O, durante la estación de verano del año 2012.

El secado, envenenado y montaje del ejemplar fue realizado según metodología convencional para tratamiento de especímenes.

La identificación correcta del material vegetal se realizó con ayuda de un botánico (Bonifacia Benítez de Bertoni, UNA-Py.), paso indispensable antes del estudio fitoquímico, farmacológico y/o toxicológico, que garantiza la autenticidad de la especie utilizada en la investigación (Hostettmann, 2008).

Para la determinación taxonómica y la resolución de la problemática nomenclatural se utilizaron la Base de Datos del Missouri Botanical Garden, Tropicos (2014) y The Plant List (2013)

El material testigo de la especie vegetal en estudio quedó depositado como muestra (MMN°:08) permanente en el Herbario FACEN del Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción.

Caracterización morfológica de la especie vegetal

La morfo-anatomía vegetal constituye un campo de estudio de gran importancia para el reconocimiento preciso de las especies vegetales, desde el punto de vista del proceso de desarrollo de tejidos y órganos. La caracterización botánica es el primer paso para la verificación de la autenticidad del espécimen vegetal con el que se trabaja, en este sentido es muy importante disponer de patrones micrográficos como referencia (World Health Organization, 1998), en todo trabajo relacionado a productos naturales de origen vegetal. Con referencia a lo mencionado por la OMS, es relevante la caracterización morfológica de la especie *Phoradendron bathyoryctum* Eichler, para lo cual se siguió la metodología convencional de caracterización morfológica, con observación directa y al microscopio estereoscópico (Argüeso, 1986).

Caracterización anatómica foliar y caulinar

El material fue hidratado con agua destilada por 4 horas. Se realizaron cortes transversales a mano alzada de hojas, se diafanizaron con disolución de hipoclorito de sodio al 2,5% y posteriormente se aplicó tinción directa con disolución de safranina al 1%. Las láminas fueron montadas con la técnica gelatina-glicerina (Argüeso A. 1986) y depositadas en el herbario FACEN (CPN°:12). Las microfotografías fueron tomadas con cámara digital MOTICAM 352 incorporada al microscopio óptico y editadas con el software Motic Images Plus 2.0 (Motic China Group, 2006).

Preparación del material vegetal y extracción de los componentes solubles en etanol

El material vegetal en estudio fue secado a temperatura ambiente, con escasa aireación y bajo sombra, para evitar la acción del oxígeno, la luz, la temperatura y microorganismos; factores que podrían transformar los compuestos originales en artefactos (Hostettmann 2008). Las hojas secas fueron molidas con la ayuda de un molino de cuchillas convencional, con el propósito de aumentar la superficie de contacto, así como la eficiencia de extracción.

Se pesó 20 g. del micropolvo, usando como solvente de extracción etanol 96°. Este procedimiento se repitió tres veces con la misma muestra (extracción exhaustiva), se juntaron los filtrados, cada filtrado se realizó en un embudo de filtración con vidrio sinterizado de 0,45 µm. Los extractos fueron concentrados en un rotavapor a 40 °C y fueron almacenados a 4 °C durante el periodo de estudio.

Evaluación de la capacidad antioxidante por el método del radical libre DPPH• (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)

Se empleó el método de Brand-Williams, Cuvelier, y Berset (1995) con algunas modificaciones: cambio de concentración de la solución de DPPH• y proporciones de los volúmenes de mezcla. El 1,1-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•), es un radical libre estable que presenta una coloración púrpura en medio metanólico, como consecuencia de la donación de un electrón o un protón por un compuesto con poder antioxidante la tonalidad desaparece convirtiéndose en color amarillo (Fig. 2). Este procedimiento se llevó a cabo utilizando 500 µL de una

concentración inicial de 1000 µg del extracto.(mL)⁻¹ y 2,5 mL de una solución metanólica de DPPH• (3,9 mg%). Como blanco se utilizó la misma cantidad de solución DPPH• y 500 µL del medio de disolución de la muestra (metanol). Luego de 30 minutos de reacción en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente, se procedió a la lectura espectrofotométrica a una longitud de onda de 517 nm. Para la construcción de la curva de calibración, fueron preparadas cinco soluciones metanolicas de ácido ascórbico en un intervalo de concentración de 6,0 a 14,0 µg.(mL)⁻¹.

Para cada muestra estudiada se calculó el porcentaje de inhibición del radical por medio de la siguiente ecuación:

$$\%I = 100 - \left[\frac{(A_m - A_b) \times 100}{A_c} \right]$$

Donde:

%I = Porcentaje de inhibición del radical DPPH•

A_m = Absorbancia de la muestra

A_b = Absorbancia del blanco

A_c = Absorbancia del control

La determinación de la IC₅₀, es decir, la concentración de la muestra o estándar que provoca 50% de inhibición de la concentración inicial de DPPH• se obtuvo por regresión lineal de los puntos representados gráficamente.

Para los puntos representados en la curva de calibrado, se utilizaron los valores medios obtenidos de triplicados realizados para cada ensayo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación taxonómica y caracterización anatómica de la especie *Phoradendron bathyoryctum* Eichler

Tanto la identificación taxonómica, así como el estudio morfoanatómico afirmaron que la especie en estudio se trata de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler (Fig. 3), y se la describió de la siguiente manera: plantas epífitas, sub-arbustos, con órganos que le permiten estar hundido en las ramas del hospedante, en este caso en las de la especie vegetal *Patagonula americana* L.

Tallos verdes fotosintetizadores. Hojas de color verde intenso, de 70-90 x 20-30 mm, con dos catáfilos en la base. Entrenudos comprimidos, 65 mm entre un nudo y otro. Hojas asimétricas elípticas arqueadas, con nervadura casi invisible, se visualizan recién en hojas secas, las más jóvenes carnosas y las más adultas son coriáceas, las del extremo de la rama tienen el ápice puntiagudo, algunas hojas de las ramas tienen un pequeño mucrón, el resto de las hojas su ápice es redondeado, con peciolo y base atenuada.



Fig. 3: Planta de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler

Inflorescencia en espiga. Frutos globosos pseudobaya color naranja. En cuanto a la caracterización anatómica caulinar la epidermis es uniestrata, compuesta por células cuadrangulares y presencia de estomas del tipo paracítico. El parénquima cortical está constituido por células redondeadas, con casquetes de fibras esclerenquimáticas y agrupaciones de braquiesclereidas, coincidiendo con lo mencionado por (Gómez 2011). El haz vascular es del tipo colateral abierto, está dispuesto alrededor de la medula formando un anillo discontinuo. En la parte central se halla la medula formada por tejido parenquimático.

En referencia a la caracterización anatómica foliar la epidermis es uniestratificada, con células de contorno rectos, estomas del tipo paracítico presentes en ambas caras de la hoja, la caracterizan como anfiestomática, coincidiendo con lo mencionado por (Gómez 2011). El Índice Estomático (IS , en $N = 26$) para la cara adaxial es 4,00 (8,08) 10,81; y para la cara abaxial es 5,66 (9,35) 13,04.

El mesófilo isobilateral, compuesto de células parenquimáticas cuadrangulares, con presencia de cristales de oxalato de calcio del tipo drusas. El haz vascular se encuentra rodeado por fibras perixilemática y perifloemática (Martínez 2013).

Evaluación de la capacidad antioxidante por el método del radical libre DPPH• (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)

La curva de calibrado: Porcentaje de inhibición (PI) Vs. Concentración de Ácido ascórbico (AA) en μg (Fig. 4), obtenido a partir de las diversas disoluciones patrón de este compuesto, generaron los siguientes datos: ecuación de regresión lineal (ERL):

PI = 10,9[AA] – 1,07 y un valor de coeficiente de correlación lineal (r) igual a 0,997.

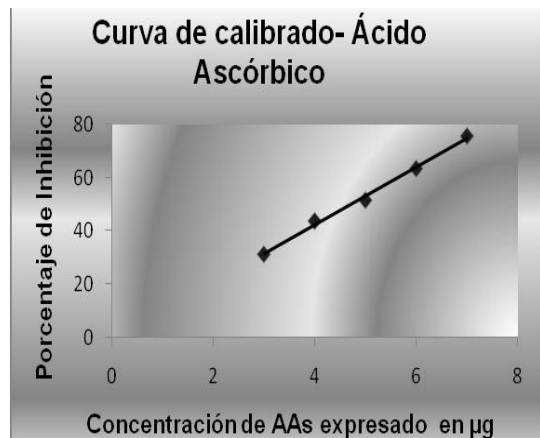


Fig. 4: Curva de Calibrado obtenido a partir de disoluciones patrón de ácido ascórbico (AA)

Los parámetros obtenidos de la curva de calibrado: Porcentaje de inhibición (PI) Vs. Concentración de extracto crudo (EC) en µg (Fig. 5) fueron: ecuación de regresión lineal (ERL): PI = 0,298[EC] – 0,595 y un valor de coeficiente de correlación lineal (r) igual a 0,995.

En valor de la IC₅₀ calculada para el ácido ascórbico utilizado como patrón fue de 4,69 ± 0,03 µg y la IC₅₀ calculada para el extracto crudo correspondiente a la especie vegetal en estudio generó un valor de 169 ± 1,0 µg.

Los valores de IC₅₀ obtenidos indican que el extracto crudo de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler es 36 veces menos antioxidante en referencia al ácido ascórbico (AA) utilizado como patrón en este experimento, debido al elvado poder reductor que lo llevó a ocupar un importante lugar dentro de los compuestos considerados como protector contra la oxidación, pero sin

despreciar que el extracto de la especie vegetal en estudio demostró buenas propiedades antioxidantes, es decir que tiene la capacidad análoga al ácido ascórbico de capturar el radical DPPH●, valor agregado del vegetal al momento de ser consumido por la población paraguaya.

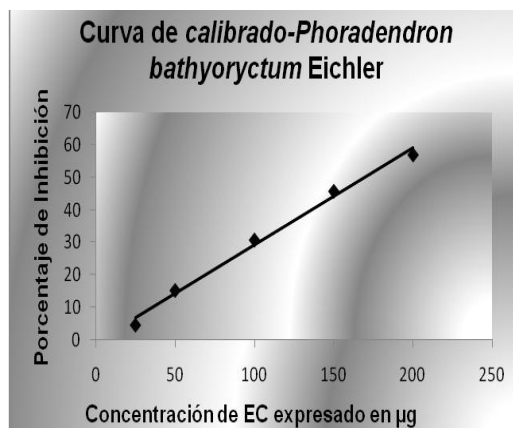


Fig. 5: Curva de Calibrado obtenido a partir de soluciones de extracto crudo (EC) de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler

Por otro lado se concluye que 50 µg de extracto crudo posee la capacidad de inhibir el 39,7 ± 1,99% del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH●) y finalmente que cada gramo de extracto de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler contiene un equivalente a 75.400 ± 3764 µg de ácido ascórbico (AA).

El ensayo de la actividad secuestradora del radical orgánico libre DPPH●, representa un test de predicción del poder antioxidante, pudiendo ser empleado para *screening* de productos naturales, tornandose importante como test preliminar para la determinación del potencial antioxidante de un extracto, fracción o sustancia pura (Paula. 2015).

BIBLIOGRAFÍA

- Argüeso A., D'A. 1986. *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Buenos Aires: Hemisferio Sur.
- Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier, y C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28 (1): 25-30.
- Bush, R. 1998. *Adverse reactions to food and drug additives, in Allergy. Principles and Practice*. 5th ed. St. Louis: Mosby.
- Cornelli, Umberto. 2009. Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology, Neutraceuticals: Part II*, 27 (2): 175-94. doi:10.1016/j.clindermatol.2008.01.010.
- Cowie, J. 2008. *Polymers: Chemistry and Physics of Modern Materials*. 3rd ed. Scotland, Ucrania: CRC Press.
- Cronquist, A. 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York, Columbia University Press.
- Ferreira, A. L. A., y L. S. Matsubara. 1997. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira* 43 (1): 61-68.
- Fuchs, Jürgen. 1998. Potentials and limitations of the natural antioxidants RRR-alpha-tocopherol, l-ascorbic acid and beta-carotene in cutaneous photoprotection1. *Free Radical Biology and Medicine* 25 (7): 848-73.
- Garg, Deepa, Ayesha Shaikh, Aditya Muley, y Thankamani Marar. 2012. In-vitro antioxidant activity and phytochemical analysis in extracts of Hibiscus rosa-sinensis stem and leaves. *Free Radicals and Antioxidants* 2 (3): 41-46.
- Gómez, M. 2011. Anatomía de especies mexicanas de los géneros Phoradendron y Psittacanthus, endémicos del Nuevo Mundo. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82: 1203-18.
- Hostettmann, K. 2008. *Manual de estrategias para el aislamiento de productos naturales bioactivos*. Bogotá-Colombia: Convenio Andrés Bello.
- Ito, Nobuyuki, Shoji Fukushima, Akihiro Haqlwara, Michiko Shibata, y Tadashi Ogiso. 1983. Carcinogenicity of Butylated Hydroxyanisole in F344 Rats. *Journal of the National Cancer Institute* 70 (2): 343-52.
- Martínez, M. 2013. Estudio espectrofotométrico de la actividad hemolítica del extracto crudo de Phoradendron bathyoryctum Eichler sobre eritrocitos humanos. *Revista Steviana* 5: 114-21.
- Parr, Adrian J, y G Paul Bolwell. 2000. Phenols in the Plant and in Man. The Potential for Possible Nutritional Enhancement of the Diet by Modifying the Phenols Content or Profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80 (7): 985-1012.
- Paula, Cristiane da Silva, Vanessa Cristina Dias Canteli, Beatriz Cristina Konopatzki Hirota, Ranieri Campos, Vinicius Bednarczuk de Oliveira, Milena Kalegari, Cristiane Bezerra da Silva, Geciani Miriam Silva, Obdulio Gomes Miguel, y Marilis Dallarmi Miguel. 2015. Potencial antioxidante in vitro das folhas da Bauhinia unguilata L. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* 35 (2): 217-22.
- Rojano, B. 2008a. Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. *Vitae* 1 (15): 173-81.

- Rojano, Benjamín, Jairo Saez, Guillermo Schinella, Jairo Quijano, Ederley Vélez, Andrea Gil, y Rafael Notario. 2008. Experimental and theoretical determination of the antioxidant properties of isoespintanol (2-isopropyl-3,6-dimethoxy-5-methylphenol). *Journal of Molecular Structure* 877 (1–3): 1-6.
- The Plant List. 2013. Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org> (accessed 1st January).
- Tropicos. 2014. En: www.mobot.org/Name/100234908.
- Yunes R. 2001. Plantas Medicinales sobre la óptica de la química medicinal moderna. Chapecó (SC): Argos Editora Universitária 325 pp.
- Zuloaga, Ferdinando O. & Osvaldo Morrone (eds.). 1999. Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina. Vol 2.2, 623 - 1269 pp.

Diversidad y homogeneidad de especies arbóreas y arbustivas utilizadas como forrajeras alternativas en área de influencia del Arroyo Caañabé, Departamento Paraguari-Paraguay

Benítez, B.¹; Bertoni, S.²

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

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

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

Diversidad y homogeneidad de especies arbóreas y arbustivas utilizadas como forrajeras alternativas en área de influencia del Arroyo Caañabé, Departamento Paraguari-Paraguay

Esta investigación se refiere al análisis de comunidades naturales en la zona de influencia del Arroyo Caañabé. Los sitios de estudios son estancias donde se observaron actividad ganadera. El objetivo del trabajo fue determinar la diversidad y el nivel de homogeneidad de especies arbustivas y arbóreas, consumidas como forraje alternativo por la ganadería, en las comunidades naturales. La metodología aplicada fue la de realizar un censo de las especies arbustivas y arbóreas en 9 parcelas de 100 m de largo por 4 m de ancho; se determinaron los siguientes valores: Abundancia, Índice de Shannon, Equitatividad y Densidad. Los resultados obtenidos abarcan lo siguiente: fueron observadas comunidades naturales de bosques ribereños cuyas parcelas 1 y 6 son las que mayor Índice de Shannon y Homogeneidad se obtuvieron; además se observó la presencia de Matorrales higrófilos donde la parcela 2 es la que presentó mayor valor en los índices estudiados. Según los valores obtenidos se concluye que los sitios tienen una muy baja diversidad debido a la actividad ganadera y demás acciones antropogénicas; se observó que la diversidad y abundancia de las especies varían para cada tipo de formación y según la presión del ganado en los diferentes sitios, siendo mayor la diversidad en los sitios con menor ramoneo.

Palabras claves: diversidad, bosques ribereños, matorrales higrófilos

Uniformity and diversity of tree species and shrubs used as alternative feed in area of influence of Arroyo Caañabé, Paraguari Department-Paraguay

This research refers to the analysis of natural communities in the area of influence of the Caañabe stream. The study sites are ranches where livestock farming was observed. The aim of this work was to determine the diversity and homogeneity level of the shrub and tree species consumed as alternative feed by the livestock in the natural communities. The methodology applied was the conduction of a census of the shrub and tree species in 9 plots of 100 m in length and 4 m in width; the following values were determined: abundance, Shannon index, equitability and density. The results obtained include the following: we observed natural communities of riparian forest whose plots 1 and 6 were the ones which obtained the highest Shannon and Homogeneity indexes; we also observed the presence of hygrophilous scrublands where plot 2 was the one that presented the highest values for the indices studied. According to the values obtained we conclude that the sites have a very low diversity due to livestock farming and other antropogenic actions; it was observed that the diversity and abundance of the species vary for each type of formation and according to the pressure caused by cattle in the different sites, diversity being higher on the sites with lower browsing.

Keywords: diversity, riparian forests, thickets hidrófilos

INTRODUCCIÓN

Existe una problemática observada en los establecimientos ganaderos, donde la degradación intensiva de los recursos naturales se debe en gran parte a que están sometidos a prácticas de aprovechamiento no sustentables. Esto puede llevar a la degradación extrema de los ecosistemas naturales de la zona si no se toman medidas correctivas. Además de esto se observa la necesidad del uso de estos recursos para el desarrollo socio-económico de las comunidades. Lo observado en el área de estudio contrasta con las observaciones realizadas por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, 2008) por el hecho de que se observa prácticas ganaderas no acordes a la conservación; en el citado documento se menciona que las sociedades alrededor del mundo, tendrían que adoptar el desarrollo sustentable como objetivo último.

Según la Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación y la Comisión Europea (FAO-CE, 2002), refiriéndose al estado de la información forestal en el Paraguay, muchos pequeños productores agropecuarios han aprendido a usar árboles como fuente de forraje en época de escasez de pastos; las especies forrajeras nativas son conocidas desde tiempos remotos. En el citado informe se menciona que los pequeños productores valoran los árboles como forraje y una alternativa alimenticia en época de sequía; sin embargo, hasta el momento se conoce muy poco sobre el valor alimentario de estas especies nativas; se menciona como fuente de forraje algunas especies: *Acrocomia aculeata* (coco), *Psidium guajava* (guayaba), *Pithecellobium saman* (manduvira), *Albizzia hassleri* (yvyra ju), *Inga spp* (inga).

Las formaciones vegetales naturales encontradas en la zona de influencia de los dos arroyos Caañabe y Mbaey se constituyen en sitios que albergan al ganado esencialmente en épocas de inundaciones, razón por la cual son sitios muy degradados. Las mismas corresponden a tres tipos de formaciones: el Bosque en galería, Bosque ribereño y Matorral higrófilo; al que hay que sumarle el palmar de *Copernicia alba*, esta es una prolongación de los palmares chaqueños.

Esquivel *et al.* (2003), mencionan estudios de América latina que demuestran que las fincas ganaderas de esta región presentan una alta diversidad de especies arbóreas, aunque muchas especies se encuentran en bajas densidades. Esta gran riqueza de especies pudiera estar relacionada a estrategias de los productores para diversificar sus ingresos y aprovechar el valor comercial de los árboles maderables, obtener follaje y frutos para alimentar el ganado y proporcionar medicinas y alimentos a los propios ganaderos y a la fauna silvestre.

En Paraguay se observa con mucha frecuencia establecimientos ganaderos con praderas naturales y formaciones boscosas, sean éstas ribereños o bosquetes incluidos en los campos naturales. En estas áreas se observa una tendencia a las prácticas de manejo, como el ramoneo del ganado, entre otras actividades, ya que estas formaciones fungen de forrajeras alternativas en épocas críticas del tapiz gramíneo.

Cabe resaltar que el uso de las especies forrajeras de bosques y de otras formaciones es una práctica común, pero no existen planes de manejo que aseguren la sostenibilidad. Aunque el aprovechamiento en las formaciones citadas es temporal, de acuerdo al estado del campo, son

alternativas para épocas críticas, por ello es importante conocer lo que hay en cada formación y las prácticas de manejo que se deben de aplicar. Esto se puede hacer teniendo el conocimiento básico sobre la composición florística y algunos parámetros cuantitativos básicos.

Cabe mencionar que existen épocas de sequías prolongadas, cuya principal consecuencia es la falta de pastura para la alimentación del ganado. Sin embargo, las especies arbustivas y arbóreas tienen mejor resistencia a estas condiciones climatológicas extremas, por lo tanto éstas son especies alternativas para ser utilizadas como forrajeras. En contraposición, durante las épocas de crecidas y de desborde del Arroyo Caañabé y sus afluentes, el ganado se refugia en los bosques ribereños donde la toposecuencia es más alta y donde se mantiene alimentándose de las especies arbóreas y arbustivas, objeto de este trabajo de investigación.

Por otra parte, la ganadería es una de las actividades principales del Departamento de Paraguari, y es considerada como un sector económico primario en el departamento citado, de acuerdo a la información aportada por la Dirección General de Estadística, Encuestas y Censos (DGEEC, 2004).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la diversidad y el nivel de homogeneidad de especies arbustivas y arbóreas, consumidas como forraje alternativo por la ganadería, en las comunidades naturales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio, está localizado en el Distrito de Paraguari, con una población aproximada de 22.154 habitantes.

El establecimiento las Rosas, comprende una superficie de 1.200 has, que se extiende a ambos lados de la Ruta 1. La propiedad está irrigada por 2 arroyos importantes, uno permanente, el Caañabé y el otro temporal, el Mbaey. La principal actividad es la pecuaria, en especial la cría y engorde del ganado vacuno.

Diseño de muestreo

Se seleccionaron los puntos de muestreo considerando las características fisonómicas de las formaciones observadas, para posteriormente ser georreferenciadas y representados en un mapa de distribución. El tipo de muestreo fue del tipo conglomerado simple para cada formación (Fig. 1).

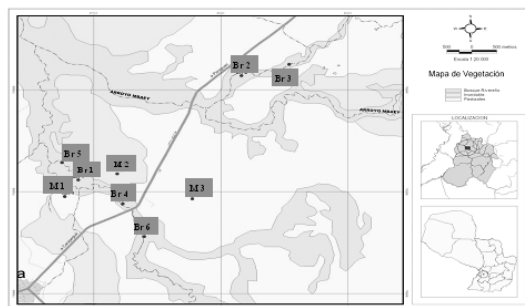


Fig. 1: Mapa de vegetación y puntos de muestreo

Se identificaron 2 tipos de comunidades naturales: Bosque ribereño (Br) – Matorrales higrófilos (Mh)

Se diseñó 3 parcelas en matorral higrófilo y 6 en bosques ribereños, las 6 parcelas del bosque ribereño se debió a la mayor extensión en superficie de este tipo de unidad vegetal. Cada parcela tiene un área de 100 m de largo por 4 m de ancho. Las parcelas fueron distribuidas de acuerdo a las características fisonómicas de las comunidades y cada una está lo suficientemente alejada de la otra, por lo que

se asume que son consideradas unidades independientes.

Dentro de cada parcela se censaron todos los individuos arbustivos y arbóreos utilizados como forrajeras alternativas considerando los rastros del ramoneo en cada ejemplar y de los datos aportados por los informantes calificados.

Análisis de datos

Determinación de la abundancia de especies

Las especies utilizadas como forrajeras fueron identificadas por rastros del ramoneo y por los datos aportados por los informantes calificados.

El recuento de la abundancia se realizó teniendo en cuenta todos los individuos de porte arbustivo y arbóreo utilizados por el ganado por cada especie de uso forrajero, en las unidades de evaluación de cada formación.

La abundancia obtenida para cada especie en cada unidad de evaluación fue registrada en planillas.

Se elaboró la curva de rango-abundancia o curva de Whittaker (Feinsinger, 2003).

El gráfico se elaboró calculando los siguientes valores:

$$p_i = n_i/N$$

p_i : proporción de individuos en el total de la muestra que pertenecen a la especie i .

n_i : número de individuos de una especie en particular

N : número total de individuos en la parcela.

Luego se calculó:

Logaritmo en base 10, de cada valor de p_i .

Posteriormente se graficó, considerando para la abscisa (eje x) orden de las especies, de la más a la menos abundante. La ordenada (eje y) es el $\log_{10} p_i$.

Determinación del Índice de Shannon (H) y Equitatividad (J)

Para la determinación del Índice de Shannon y de Equitatividad, se utilizó el Software PAST, versión 2.10 (Hammer, 2011; Magurrán, 1988).

Se determinó el Índice de equitatividad (J), para determinar cuál es la comunidad que presenta una distribución más equilibrada.

Para calcular la equitatividad, primero se tuvo que determinar H_{max} , que es el valor que tendría H si todas las especies en la comunidad tuviesen el mismo número de individuos (Smith & Smith, 2001).

Los datos fueron procesados con SPSS (1999).

Determinación de la densidad

En la determinación de la densidad sugerida por Matteucci & Colma (1982), la misma se refiere a la densidad (D) como el número de individuos (N) en un Área (A).

$$D = N/A$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificó un total de 42 especies de uso forrajero alternativo, pertenecientes a 18 familias, de las cuales 20 % de las especies encontradas corresponden a la familia Leguminosae, 11 % a las familias Myrtaceae y Euphorbiaceae y 9 % pertenecen a la familia Rutaceae, entre otros de menor porcentaje. Anexo Tabla 1

Caracterización de comunidades

Caracterización del Bosque ribereño (parcela 1, 2 y 3) con predominio de *Actinostemon concolor* y *Eugenia uniflora*

Benitez, B. et al. Diversidad y homogeneidad de forrajeras alternativas

En la parcela 1 se observa la predominancia de *Actinostemon concolor*, le sigue en orden de importancia *Eugenia uniflora*, *Sebastiania brasiliensis*, *Allophylus edulis* y *Terminalia triflora*, además de *Mimosa pellita* y *Peltophorum dubium*.

En la parcela 2 existe una absoluta predominancia de *Eugenia uniflora*, acompañado de *Actinostemon concolor*, *Bromelia balansae* y *Eugenia florida*. En esta parcela está presente además *Syagrus romanzoffiana*.

En la parcela 3 la comunidad está representada esencialmente por *Eugenia uniflora*, acompañado de *Trichilia catigua*, *Pilocarpus pennatifolius*, *Maytenus ilicifolia*, *Casearia sylvestris*, *Actinostemon concolor* y *Terminalia triflora*.

La curva de abundancia en la Fig. 3, representa a un bosque con mayor diversidad de especies. Además, tanto en la parcela 1, 2 y 3 *Eugenia uniflora* se presenta como una de las más abundantes con

densidades que van de 0.067, 0.402 y 0.63 respectivamente.

Así mismo, *Actinostemon concolor* es una de las especies más abundantes en las parcelas 1 y 2, con densidades de 0.082 y 0.117, cabe resaltar que en la parcela 3 se encuentra representado por un solo individuo.

La Fig. 2 muestra que en el promedio de las abundancias entre las tres parcelas del Bosque ribereño, es *Eugenia uniflora* la especie con mayor abundancia.

En la curva perteneciente al sitio Br 3 de la Fig. 3 se observa mayor diversidad, sin embargo la parcela 1 presenta mayor homogeneidad en la abundancia de las especies según lo constatado en el valor de $J=0.854$, con un Índice de Shannon = 2,193; cabe resaltar que *Eugenia uniflora* aumenta considerablemente su abundancia respecto a las demás, razón por la cual hace que la parcela 3 tenga menor índice de Shannon.

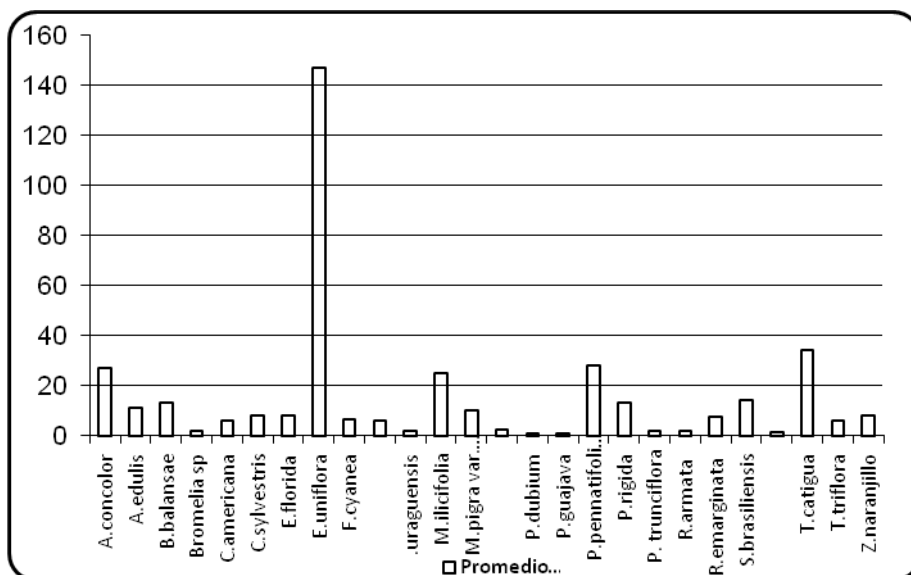


Fig. 2: Promedio de abundancia de especies del Bosque ribereño 1, 2 y 3

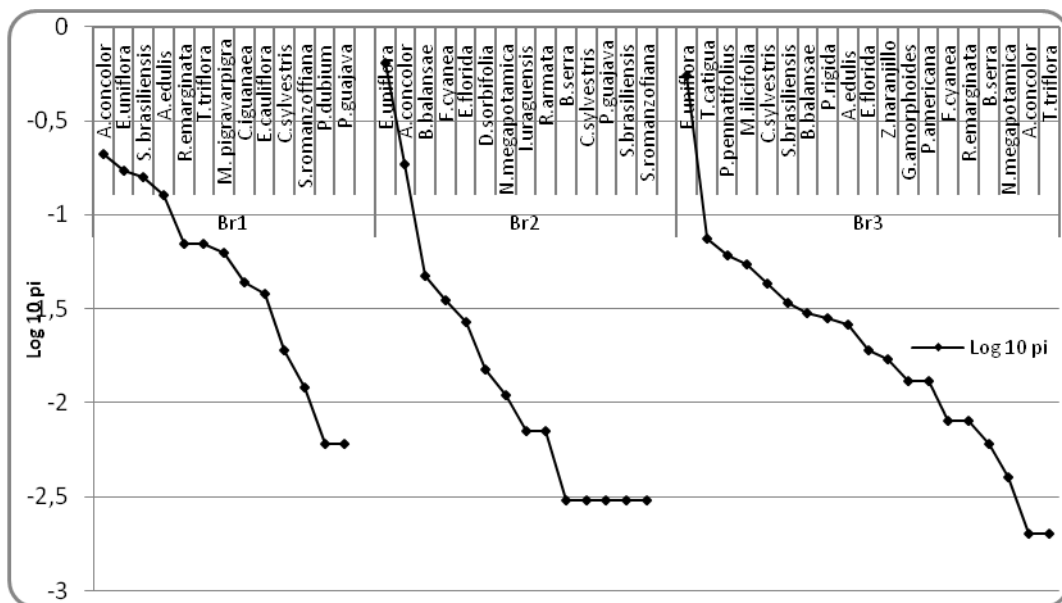


Fig. 3: Curva de abundancia especie en cada parcela ($\log_{10} \pi$) del Bosque ribereño 1, 2 y 3

Caracterización del Bosque ribereño (parcela 4, 5 y 6), con predominio de *Rollinia emarginata*, *Actinostemon concolor* y *Eugenia uniflora*

En la parcela 4 se ha observado, una comunidad con predominancia de *Rollinia emarginata*, *Celtis iguanaea* y *Enterolobium contortisiliquum*, acompañados por *Casearia sylvestris*, *Eugenia uniflora*, *Guarea macrophylla* y *Hexaclamys edulis*.

En la parcela 5 se observa una comunidad con una marcada predominancia del arbusto *Faramea cyanea*; le sigue en orden de importancia *Actinostemon concolor* e *Inga uraguensis*.

En la parcela 6 se ha registrado una comunidad con predominancia absoluta de *Eugenia uniflora* acompañado de *Casearia gossypiosperma*, *Actinostemon concolor*, *Allophylus edulis*, *Casearia sylvestris* y *Rollinia emarginata*,

Se observó que la parcela 6 presenta un tipo de curva indicadora de mayor

diversidad coincidiendo con lo obtenido en el Índice de Shannon=2,165 y una distribución más equilibrada, según el valor de $J= 0,871$. La pendiente de la curva de la parcela 6 indica una mayor aproximación en la abundancia, con varias especies de abundancia intermedia y ninguna con una dominancia numérica tan pronunciada como en las parcelas 4 y 5 (Fig. 5).

Cabe remarcar que:

En el promedio de abundancia es *Casearia gossypiosperma* la que presenta mayor valor, seguido por *Faramea cyanea* (Fig. 4).

En la parcela 4 *Rollinia emarginata* es la especie que alcanza un pico de abundancia mayor, con una densidad de 0.097, seguido por *Celtis iguanaea* con una densidad de 0.047.

En la parcela 5 el arbusto *Faramea cyanea*, alcanza mayor abundancia y densidad, con valor para éste último de 0.11, seguido de *Actinostemon concolor*,

cuya densidad es de 0.055, mientras que *Rollinia emarginata* es el que presenta menor densidad en esta parcela, con un valor de 0.011.

En la parcela 6, *Eugenia uniflora* es la que posee un rango de mayor abundancia (Fig. 5); el valor de densidad es de 0.107.

En la parcela 4 se observó además la presencia de dos especies representados

por un solo individuo, *Guarea macrophylla* subsp *spicaeflora* y *Hexaclamys edulis*. En la parcela 5 existen cuatro especies representados por un solo individuo, *Guarea macrophylla* subsp. *spicaeflora*, *Helietta apiculata*, *Psidium guajava* y *Rollinia emarginata*. En la parcela 6 se registra una especie con un individuo, *Parapiptadenia rigida*.

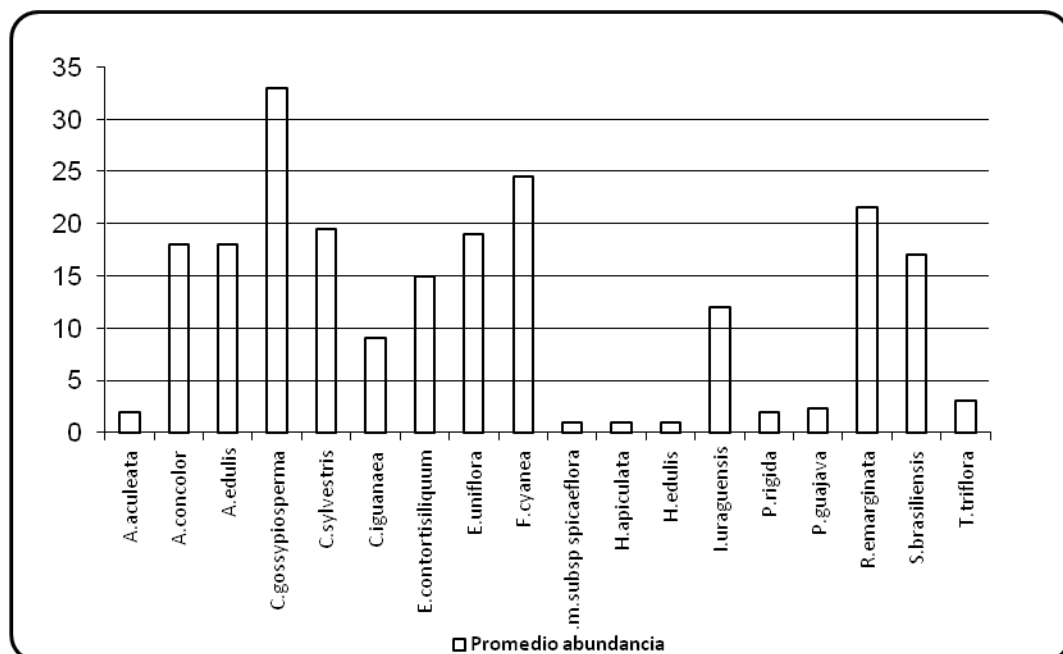


Fig. 4: Promedio de abundancia de especies del Bosque ribereño

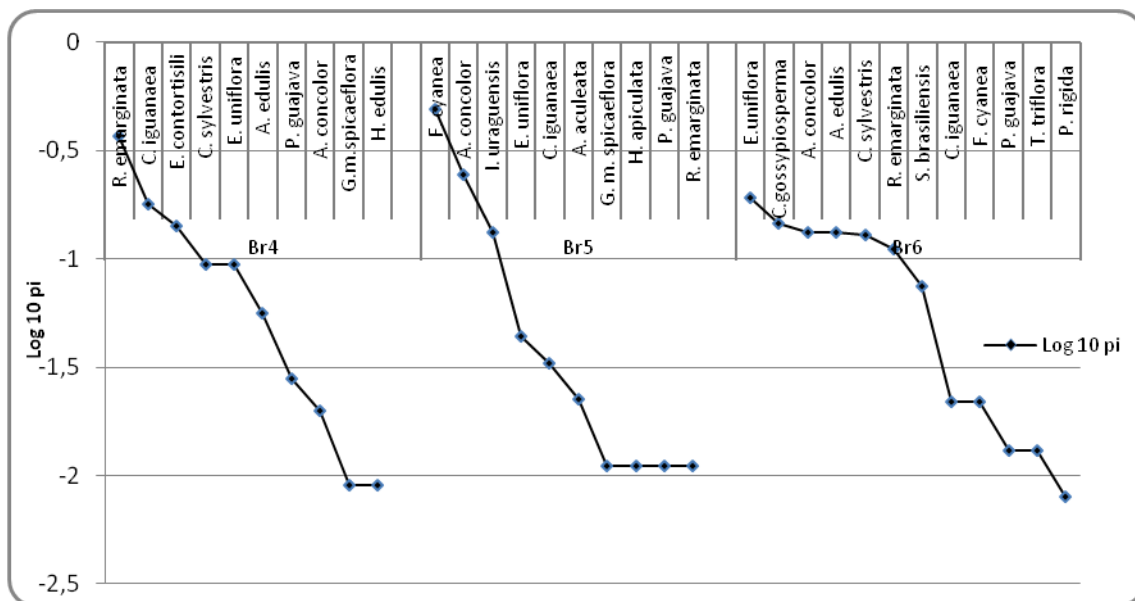


Fig. 5: Curva abundancia especie en cada formación (log₁₀ pi) del Bosque ribereño

Caracterización del Matorral higrófilo (parcela 1, 2 y 3) con predominio de *Mimosa hexandra* y *Mimosa polycarpa* var. *spgazzeni*

La parcela 1 es una comunidad de matorral higrófilo con predominio de *Mimosa hexandra*, acompañado de *Mimosa pellita*, *Actinostemon concolor*, *Sesbania virgata* y *Celtis ehrenbergiana*.

En la parcela 2 se observa una predominancia de *Celtis ehrenbergiana*, acompañada de *Rollinia emarginata*, *Mimosa polycarpa* var. *spgazzeni*, *Randia armata*, *Actinostemon concolor*, *Mimosa pellita*, *Mimosa pigra* var. *pigra*, *Randia armata* y *Prockia crucis*. Así mismo, en esta parcela se observó además elementos del Bosque subtropical como *Enterolobium contortisiliquum* y *Peltophorum dubium*.

En la parcela 3 se observa la presencia de leguminosas arbustivas como *Mimosa polycarpa* var. *spgazzeni*, acompañada de *Terminalia triflora* y *Cynophalla retusa*.

Además están presentes pero escasamente representados *Allophylus edulis*, *Actinostemon concolor*, *Enterolobium contortisiliquum* y *Zanthoxylum riedelianum*.

De las parcelas de matorral higrófilo, se observó que la curva correspondiente a la parcela 2 no presentó picos altos de abundancia de especie, siendo a su vez la de mayor diversidad y la que presenta mayor homogeneidad, coincidiendo con las determinaciones del Índice de Shannon=1,866 y con el valor de J=0.727 (Fig. 7).

En el gráfico de la Fig. 7 se observa que *Mimosa hexandra* y *Mimosa polycarpa* var. *spgazzeni* son especies cuyo promedio de abundancia entre las tres parcelas, presentan mayor significancia.

En las parcelas 1, 2 y 3 predominan especies del género *Mimosa* con densidades altas. Como ejemplo se menciona a *Mimosa hexandra* de la

Benitez, B. et al. Diversidad y homogeneidad de forrajeras alternativas

parcela 1 con densidad 0.162, en la parcela 2 se registró la presencia de *Mimosa polycarpa* var. *spgazzzini* con una densidad de 0.07, de igual manera la misma especie registró una densidad de 0.185 en la parcela 3, mayor con respecto a las demás especies.

En la parcela 2, las especies con mayor densidad, en orden de importancia son: *Celtis ehrenbergiana*, *Rollinia emarginata* y *Mimosa polycarpa* var. *spgazzzini*, con 0.105, 0.095 y 0.07 respectivamente.

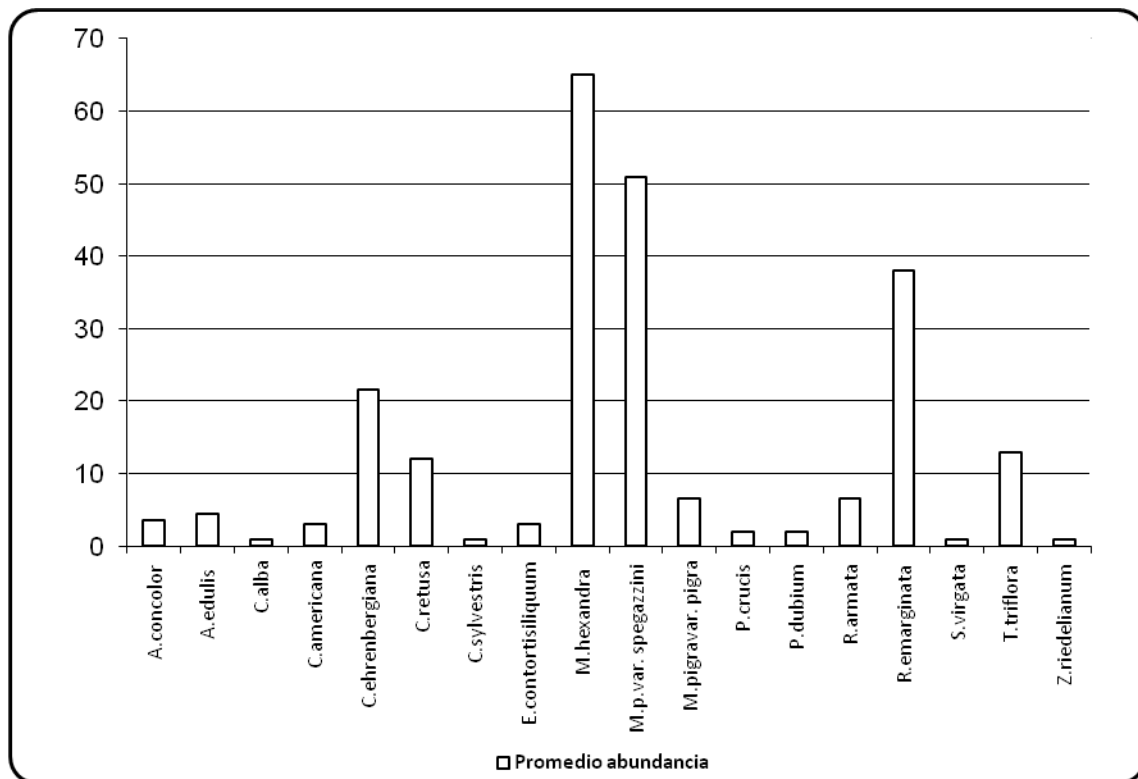


Fig. 6: Promedio de abundancia de especies del Matorral higrófilo con predominio de *Mimosa hexandra* y *M. polycarpa*

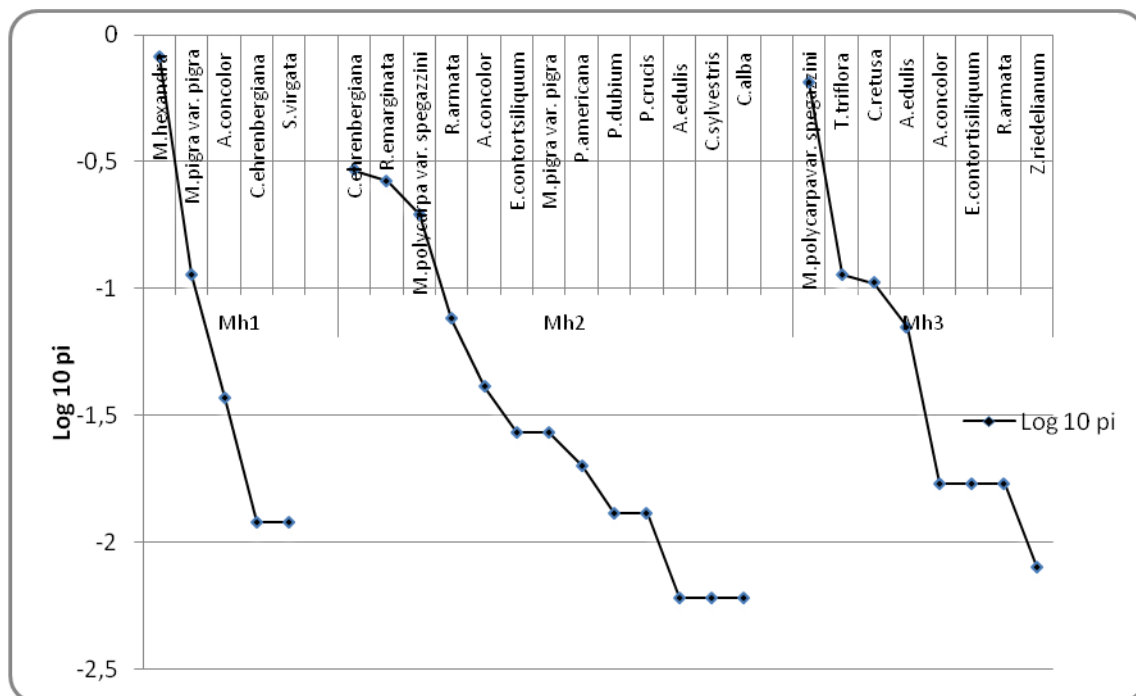


Fig. 7. Curva de abundancia especie en cada parcela ($\log_{10} \pi$) del Matorral higrófilo

Determinación de la Diversidad por Índice de Shannon

La diversidad ha sido descrita como indicadora de un conjunto de aspectos del funcionamiento de los ecosistemas, tales como la cantidad e intensidad de las interacciones poblacionales que tienen lugar en el interior del sistema o la calidad y cantidad del flujo energético disponible (Margalef, 1980; Odum, 1980).

El Índice de Shannon determina, el número de especies (riqueza) y la forma de distribución o abundancia de los individuos en cada especie (Magurran, 1988; Melic, 1993)

Los 2 componentes, determinados en este trabajo, riqueza y equitatividad de especies, se pueden separar con la determinación del Índice de equitatividad (J); desde un punto de vista aplicativo, ha sido y es utilizada

como un índice de calidad del ecosistema (Mendoza & Arellano, 2002)

Smith & Smith (2001) y Pla (2006) refieren que, el índice refleja la heterogeneidad de una comunidad sobre la base de dos factores: el número de especies presentes y su abundancia relativa; conceptualmente es una medida del grado de incertidumbre asociada a la selección aleatoria de un individuo en la comunidad; esto es, si una comunidad de S especies es muy homogénea, por ejemplo porque existe una especie claramente dominante y las restantes S-1 especies apenas presentes, el grado de incertidumbre será más bajo que si todas las S especies fueran igualmente abundantes; es decir, al tomar al azar un individuo, en el primer caso tendremos un grado de certeza mayor (menos incertidumbre, producto de una menor entropía) que en el segundo; porque

mientras en el primer caso la probabilidad de que pertenezca a la especie dominante será cercana a 1, mayor que para cualquier otra especie, en el segundo la probabilidad será la misma para cualquier especie.

Se observó, que el Bosque ribereño siguen una tendencia similar en cuanto a los valores obtenidos a través del índice aplicado; mientras que en el Matorral higrófilo, solo la parcela 2 demostró una diversidad mayor y una distribución más equilibrada, (Tabla 1 y 2; Fig. 8), en el que la diversidad de especies disminuye donde se compromete la integridad ecológica (Feinsinger, 2003).

Igualmente, se pudo constatar que la parcela 1 y 6 del bosque ribereño adquirieron mayor valor, considerando el valor de H: 0,854 y 0,871 respectivamente, constituyendo de esta manera los gráficos obtenidos como una de las herramientas válidas para la evaluación de la diversidad de especies (Feinsinger, 2003).

Así también, considerando los valores de equitatividad, se pudo observar que la parcela 6 del bosque ribereño presenta una distribución más equilibrada, de acuerdo al valor de J=0.871, seguido por la parcela 1 del bosque ribereño, J=0,854 y la parcela 2 del Matorral higrófilo con J=0,727.

Tabla 1. Valores de Índice de Shannon (H) por formación y por parcela

Formaciones	Parcela 1	Parcela 2	Parcela 3	Parcela 4	Parcela 5	Parcela 6
Br	<u>2,193</u>	1,268	1,836	1,824	1,494	<u>2,165</u>
Mx	0,6428	<u>1,866</u>	1,206	-	-	-

Tabla 2. Valores del Índice de equitatividad (J) por formación y por parcela

Formaciones	Parcela 1	Parcela 2	Parcela 3	Parcela 4	Parcela 5	Parcela 6
Br	<u>0,854</u>	0,480	0,623	0,792	0,648	<u>0,871</u>
Mx	0,399	<u>0,727</u>	0,579	-	-	-

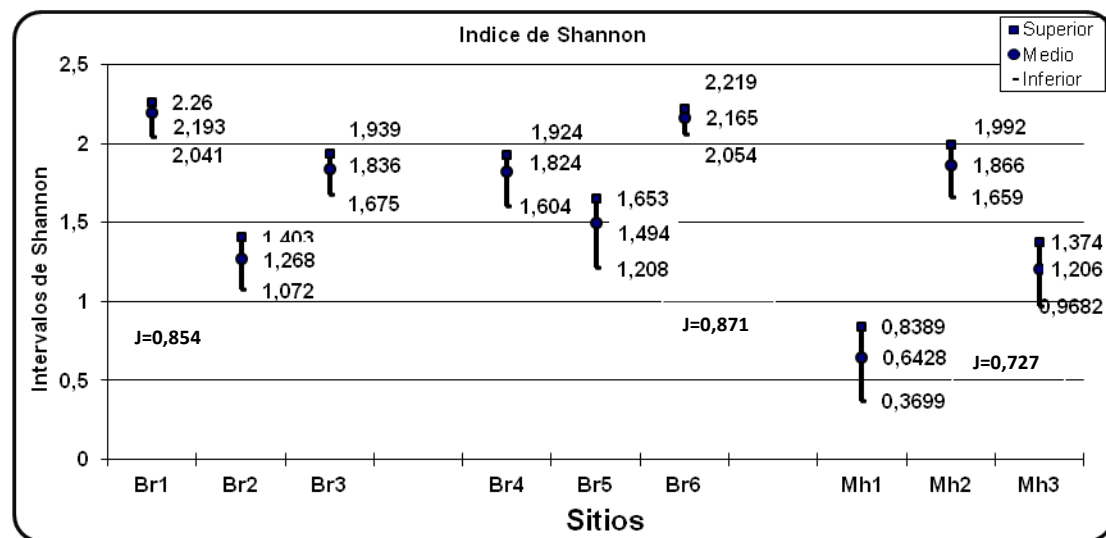


Fig. 8: Índices e intervalos de Shannon por Bootstrap y Equitatividad, en las diferentes formaciones

Según los informantes calificados, cada uno de los sitios censados que pertenecen a determinados potreros, son utilizados en forma periódica o permanente, dependiendo del estado en que se encuentra el tapiz gramíneo tanto en épocas de sequía como de inundaciones, lo que determina el momento y la cantidad de ganado que debe ser cargado. Es importante resaltar, que se ha observado un forrajeo y ramoneo intensivo por parte del ganado que se produce dentro de los sitios censados.

La unidad productiva citada está constituida por un conglomerado de pequeños ecosistemas naturales, en los que predomina el tapiz gramíneo, los bosques ribereños y matorrales higrófilos con predominancia de leguminosas arbustivas, así como pequeñas lagunas temporales. El área se encuentra irrigada por un importante arroyo, el Caañabé, en las que drenan sus aguas en las épocas de lluvias varios afluentes temporales como el Mbaey y son los responsables de diseñar los bosques ribereños que acompañan los cursos de agua.

En la época de lluvia, estos cursos de agua desbordan y cubren grandes extensiones, dando origen a la formación de bosques ribereños, como se ha mencionado.

Según observaciones en los sitios de estudio, la disminución de la riqueza de especies, como en la parcela 1 del Matorral higrófilo, está directamente relacionada a la presencia del ganado, ramoneo o pisoteo, debido a que la producción ganadera y la conservación de la biodiversidad de la flora nativa, dependen de los mismos suelos y del mismo recurso, donde las actividades están enfrentadas en un conflicto inevitable (Noy-Meir, 2005).

Esta problemática se corrobora con la mayor diversidad observada en la parcela 1 y 6 del Bosque ribereño y la parcela 2 del

Matorral higrófilo, áreas con menor presión del ganado. Para conservar la diversidad florística en sitios sometidos a la presión ganadera se debería delimitar la ubicación de las áreas a ser utilizadas con un pastoreo controlado y así proteger la flora nativa. Una alternativa interesante podrían ser los sistemas agroforestales en sus diversas modalidades, los cuales tienen como objetivo la producción sin detrimento del ambiente. Un modelo a ser aplicable sería utilizar arbustos y árboles nativos para alimentar al ganado, de manera a poder rehabilitar los ecosistemas afectados con plantas nativas propias del lugar, además de disminuir la degradación del bosque.

Los remanentes de formaciones naturales disponibles en el establecimiento ganadero del Departamento de Paraguarí, posee una riqueza y abundancia de especies forrajeras arbustivas y arbóreas alternativas, que varían según el tipo de formación y adquieren valores mayores en los sitios donde es inferior la presión de la carga ganadera.

Estas formaciones naturales fueron ecosistemas de alta diversidad biológica, sin embargo, la práctica ganadera puede reemplazar sistemas de alta diversidad biológica por ambientes más degradados, como se observa en las parcelas 2 y 5 del Bosque ribereño y la parcela 1 del Matorral higrófilo. Cabe resaltar que los potreros con árboles y con sucesión vegetal sostienen una biota variada a la vez que promueven un uso eficaz de los nutrientes del suelo, por lo que una mayor diversidad de plantas se promueve evitando quemadas y herbicidas. El mantenimiento de los pastizales se debería efectuar a través de podas y cortes selectivos de la vegetación (Murgueitio & Calle, s/f).

Sistemas que evolucionaron con altas presiones de herbívoros, ya sean domésticos o silvestres, la ganadería a cargas

comerciales puede ser compatible con la conservación, y aun necesaria. Sin embargo, mientras que la biodiversidad se maximiza con una presión de herbivoría heterogénea dentro de cada uno de los diferentes ambientes que componen el paisaje, la producción ganadera tiende a optimizarse con una presión homogénea. Por ello, aún en sistemas que evolucionaron con alta presión de herbivoría, la compatibilidad con la conservación exige una cierta heterogeneidad de la presión, lo que puede disminuir la producción con respecto a la máxima posible; en sistemas que evolucionaron con baja presión de herbivoría es menos probable que la ganadería comercial resulte compatible con la conservación de la biodiversidad y de los suelos ; de manera que si el sistema evolucionó con bajas presiones de herbivoría, la diversidad disminuye con la carga, mientras que si evolucionó con una alta presión de herbívoros, la diversidad se mantiene relativamente constante, excepto a cargas muy altas (Cingolani *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

Se citan las siguientes conclusiones:

Se observó que la diversidad y abundancia de las especies varían para cada tipo de formación y según la presión del ganado en los diferentes sitios, siendo mayor la diversidad en los sitios con menor ramoneo.

Se ha identificado especies que se encuentran en los 2 tipos de formaciones, las especies son: *Actinostemon concolor*, *Allophylus edulis*, *Casearia sylvestris*, *Celtis tala*, *Rollinia emarginata* y *Terminalia triflora*.

En el bosque en galería están representados 5 especies exclusivas, en el

bosque ribereño 12 especies son exclusivas y 8 especies exclusivas del Matorral higrófilo.

Rollinia emarginata es considerada una especie indicadora de perturbación. Se ha observado que es predominante en la parcela 4 del bosque ribereño, sitio sometido a fuertes presiones por el ramoneo del ganado.

El sitio con mayor riqueza corresponde al bosque ribereño, en especial el sitio de la parcela 3. La presencia de un pico de abundancia de una especie, *Eugenia uniflora*, en la parcela 3 hace que no sea lo suficientemente homogénea con respecto a la 1, a pesar de que la parcela 3 presenta un total de 19 especies, número mayor con respecto a las otras parcelas.

El ramoneo excesivo del ganado es uno de los factores causantes de la degradación de las comunidades naturales estudiadas, debido principalmente a la ausencia de una planificación adecuada en el manejo de los sitios. Se observa que en este caso la ganadería ha reemplazado un sistema de alta diversidad biológica por ambientes pobres en especies (Murgueitio & Calle, s/f)

La parcela 3 del Bosque ribereño, es una de las comunidades importantes por el mayor número de especies y por la presencia de una población de *Maytenus ilicifolia*, considerada en peligro de extinción por la Secretaría del Ambiente (SEAM, Res. 2243/06); aunque el Índice de Shannon y el de equitatividad consideren a la parcela 1 con mayor diversidad y más homogéneo.

Las parcelas 2 y 3 del matorral higrófilo son las que están sometidas a un cierto sistema de manejo, debido a que pertenecen a potreros diferentes y se alterna el ramoneo para cada parcela en épocas diferentes; mientras que el sitio que pertenece a la parcela 1 se encuentra muy degradado por el intenso pastoreo y ramoneo. El conflicto que

se observa en la zona entre ganadería y conservación tendría soluciones diversas según las condiciones ecológicas, considerando el efecto de la carga animal sobre la diversidad vegetal (Noy-Meir, 2005)

La incorporación del conocimiento local de los productores en los procesos de investigación y desarrollo silvopastoril, contribuirá a establecer bases sólidas para diseñar nuevas propuestas que permitan el aprovechamiento y conservación de los recursos locales y generar sistemas de producción más beneficiosa (Jiménez-Ferrer & al, 2008).

Se recomienda implementar planes de manejo teniendo en cuenta los datos obtenidos en este trabajo, considerar los datos de Diversidad, Abundancia y Homogeneidad, debido a que son sitios muy presionados por la influencia antropogénica, en especial a las prácticas ganaderas teniendo en cuenta por sobre todo que son los últimos remanentes de comunidades naturales presentes en la zona. Se debe reconocer que existe un potencial biológico mayor si se hace una manejo equilibrado de la naturaleza, integrando la ganadería con otros sistemas productivos (Murgueitio & Calle, s/f) y considerar que el conocimiento del uso de árboles y arbustos forrajeros juegan un rol importante para el diseño de sistemas ganaderos más amigables con el medio ambiente y la economía de los productores (Jiménez-Ferrer & al, 2008).

BIBLIOGRAFÍA

- Cingolani, A. M.; Noy-Mier, I.; Renison, D. D.; Cabido, M. 2008. La ganadería extensiva, ¿es compatible con la conservación de la biodiversidad y de los suelos?. Asociación Argentina de Ecología. *Ecología Austral*. 18: 253-271.
- DGEEC. 2004. Atlas Censal del Paraguay. Departamento de Paraguari. DGEEC, Paraguay. 129-141pp.
- Esquivel, H.; Ibrahim, M.; Harvey, C.; Villanueva, C.; Benjamin, T.; Sinclair, F. 2003. Árboles dispersos en potreros de fincas ganaderas en un ecosistema seco de Costa Rica. *Agroforistería en las Americas*, 10(39-40): 24-29.
- FAO-CE. 2002. Estado de la información forestal en el Paraguay. PROYECTO GCP/RLA/133/EC. Chile, Monografía de países, 14: 179pp.
- Feinsinger, P. 2003. El diseño de estudios de campo para la conservación de la Biodiversidad. Editorial FAN, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. 242 pp.
- Hammer, O. 2011. Past. Paleontological Statistics. Versión 2.0. Natural History Museum, University of Oslo. 214 pp.
- IUCN. 2008. Diseñando un futuro sostenible. Programa de la UICN 2009–2012. Gland, Suiza. 36p.
- Jiménez-Ferrer, G.; Velasco-Perez, R.; Uribe, M.; Soto, L. 2008. Ganadería y conocimiento local de árboles y arbustos forrajeros de la selva Lacandona, Chiapas, México. *Zootecnia Tropical*, 26(3): 333-337.
- Magurran, A. E. 1988. Ecological diversity and measurement. 1ª edición, Ediciones Vedral. Barcelona, España. 198 pp.
- Margalef, R. 1980. Diversidad, estabilidad y madurez en los ecosistemas naturales. En: *Conceptos unificadores en ecología*. Edit. Blume Barcelona-España. 968p.
- Matteucci, S. D.; Colma, A. 1982. Metodología para el estudio de la vegetación. OEA, Washington, D. C. 168p.

Benitez, B. et al. Diversidad y homogeneidad de forrajeras alternativas

- Melic, A. 1993. Biodiversidad y Riqueza biológica. Paradojas y problemas. Zapateri Revta. Aragon. ent., 3: 97-103.
- Mendoza, A. G.; Arellano, G. 2002. Equivalencia entre series temporales de diversidad para dos niveles taxonómicos. En Redalyc, Ecología Aplicada, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú Vol. 1 (1): 43-49.
- Murgueitio, E.; Calle, Z. s/f. Diversidad Biológica en sistemas de ganadería bovina en Colombia. Agroforestería para la producción animal en Latinoamérica. 27-46.
- Noy-Meir, I. 2005. Producción ganadera y conservación de la biodiversidad: conflictos y soluciones. 3º Congreso Nacional sobre Manejo de Pastizales Naturales. 1-6pp.
- Odum, E. 1980. La diversidad como función del flujo de energía. En: Conceptos unificadores en Ecología. Edit. Blume Barcelona-España. 14-18pp.
- Pla, L. 2006. Biodiversidad: inferencia basada en el Índice de Shannon y la riqueza. INCI, Vol. 3: 8. Caracas, Venezuela. p.583-590. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000800008&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0378-1844.
- SEAM (Secretaría del Ambiente). Resolución 2243/06. Asunción, Paraguay
- Smith, R. L.; Smith, T. M. 2001. Ecología. 4ª edición. Addison Wesley, España. 642p.
- SPSS. 1999. Advanced Models 10.0. EEUU, Chicago. 333p.

Steviana, Vol. 7, 2015

Anexo 1: Listado de especies evaluadas

Familia	Especies	Mat. testigo
Arecaceae	<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart.	B. Benitez, 1540
Euphorbiaceae	<i>Actinostemon concolor</i> (Spreng.) Müll. Arg.	B. Benitez, 1545
Sapindaceae	<i>Allophylus edulis</i> (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron. ex Niederl.	B. Benitez, 1535
Bromeliaceae	<i>Bromelia balansae</i> Mez	B. Benitez, 1525
Bromeliaceae	<i>Bromelia sp</i> Griseb.	B. Benitez, 1526
Capparaceae	<i>Cynophalla retusa</i> (Griseb.) X. Cornejo & H.H. Iltis	B. Benitez, 1502
Flacourtiaceae	<i>Casearia gossypiosperma</i> Briq.	B. Benitez, 1490
Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	B. Benitez, 1546
Moraceae	<i>Cecropia pachystachya</i> Trecul	B. Benitez, 1551
Celtidaceae	<i>Celtis ehrenbergiana</i> (Klotzsch) Liebm.	B. Benitez, 1500
Celtidaceae	<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg..	B. Benitez, 1502
Arecaceae	<i>Copernicia alba</i> Morong	B. Benitez, 1541
Boraginaceae	<i>Cordia americana</i> (L.)Gottschling & J. S. Mill.	B. Benitez, 1530
Sapindaceae	<i>Diatenopteryx sorbifolia</i> Radlk.	B. Benitez, 1547
Fabaceae	<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.)Morong	B. Benitez, 1543
Myrtaceae	<i>Eugenia florida</i> DC.	B. Benitez, 1516
Myrtaceae	<i>Eugenia uniflora</i> L.	B. Benitez, 1517
Rubiaceae	<i>Faramea cyanea</i> Müll. Arg.	B. Benitez, 1507
Fabaceae	<i>Gleditsia amorphoides</i> (Griseb.)Taub.	B. Benitez, 1531
Meliaceae	<i>Guarea macrophylla</i> Vahl subsp <i>spicaeflora</i> (A. Juss.) T.D. Penn.	B. Benitez, 1494
Rutaceae	<i>Helietta apiculata</i> Benth.	B. Benitez, 1542
Myrtaceae	<i>Hexachlamys edulis</i> (O. Berg) Kausel & D. Legrand	B. Benitez, 1544
Fabaceae	<i>Inga uraguensis</i> Hook. & Arn.	B. Benitez, 1523
Celastraceae	<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. Ex Reissek	B. Benitez, 1537
Fabaceae	<i>Mimosa hexandra</i> Micheli	B. Benitez, 1474
Fabaceae	<i>Mimosa pigra</i> L. var. <i>pigra</i>	B. Benitez, 1505
Fabaceae	<i>Mimosa polycarpa</i> Kunth var. <i>spgazzeni</i> (Pirotta ex Hook. f.) Burkart	B. Benitez, 1501
Lauraceae	<i>Nectandra megapotamica</i> (Spreng.) Mez	B. Benitez, 1515

Benitez, B. et al. Diversidad y homogeneidad de forrajeras alternativas

Familia	Especies	Mat. testigo
Fabaceae	<i>Parapiptadenia rigida</i> (Benth.) Brenan	B. Benitez, 1536
Fabaceae	<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.	B. Benitez, 1548
Rutaceae	<i>Pilocarpus pennatifolius</i> Lem.	B. Benitez, 1528
Myrtaceae	<i>Plinia trunciflora</i> (O. Berg) Kausel	B. Benitez, 1492
Salicaceae	<i>Prockia crucis</i> P. Browne ex L.	B. Benitez, 1498
Myrthaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	B. Benitez, 1551
Rubiaceae	<i>Randia armata</i> (Sw.) DC	B. Benitez, 1495
Anonaceae	<i>Rollinia emarginata</i> Schldl.	B. Benitez, 1484
Euphorbiaceae	<i>Sebastiania brasiliensis</i> Spreng.	B. Benitez, 1550
Fabaceae	<i>Sesbania virgata</i> (Cav.) Pers.	B. Benitez, 1481
Arecaceae	<i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman	B. Benitez, 1489
Combretaceae	<i>Terminalia triflora</i> (Griseb.) Lillo	B. Benitez, 1549
Meliaceae	<i>Trichilia catigua</i> A. Juss.	B. Benitez, 1533
Rutaceae	<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	B. Benitez, 1503
Rutaceae	<i>Zanthoxylum riedelianum</i> Engl.	B. Benitez, 1504

***Cyathus poeppigii* (Agaricales, Basidiomycetes): nuevo registro para Paraguay**

Campi, M.¹; Maubet, Y.¹

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción
E mail del autor: geraldine_campi@hotmail.com

***Cyathus poeppigii* (Agaricales, Basidiomycetes): nuevo registro para Paraguay.** Se cita por primera vez para el Paraguay a *Cyathus poeppigii* Tul. & C. Tul. para el Departamento Central. Se describen las características morfológicas macroscópicas y microscópicas distintivas de la especie, fotografías de los basidiomas en fresco son presentadas, así como de las estructuras microscópicas respectivas. Se hacen comentarios con respecto a su distribución y taxonomía.
Palabras clave: Gasteromycetes, hongos nido de pájaro, Nidulariaceae, Nidulariales

***Cyathus poeppigii* (Agaricales, Basidiomycetes): new record for Paraguay.** *Cyathus poeppigii* Tul. & C. Tul. is reported for the first time for Paraguay, Central Department. Macro and microscopic morphological features are described, photographs of fresh basidiomata are presented, as well as microscopic structures. Comments are made regarding its distribution and taxonomy.
Keywords: Gasteromycetes, bird's nest fungi, Nidulariaceae, Nidulariales

INTRODUCCIÓN

Hibbett *et al.* (2007) distribuye a los hongos gasteroides en varios órdenes que comparten con formas no gasteroides, así los distribuye en la Clase *Phallomycetidae* en los órdenes *Hysterangiales*, *Geastrales*, *Gomphales* y *Phallales* (subclase *Phallomycetidae*) y la Clase *Agaricomycetidae*, con en los órdenes *Agaricales* y *Boletales*. Matheny *et al.* (2006) clasifica en seis clados a los *Agaricales*, entre los cuales en el Clado *Agaricales* VI se encuentra el grupo gasteroide con *Nidulariales*, los hongos gasteroides conocidos como “hongos nido de pájaros” (del inglés, *bird's nest fungi*).

Cyathus Haller: Pers. es un género representado por hongos pequeños de la familia *Nidulariaceae*, éste junto a los géneros *Crucibulum* Tul. & C. Tul, *Mycocalia* J. T. Palmer, *Nidula* V. S.

White y *Nidularia* Fr. & Nordholm, son conocidos como los hongos nido de pájaro por sus cuerpos fructíferos pequeños con forma de jarrón o nido y que contienen peridiolos con forma de lentejas o de huevo. El reconocimiento de las especies de *Cyathus* está basado en las características morfológicas tales como la forma del basidioma, estriación del peridio, anatomía de los peridiolos y la forma y tamaño de las esporas. (Brodie 1975; Zhao *et al.*, 2008).

Cyathus es caracterizada por su peridio formado por cuatro capas (una correspondiente al exoperidio y tres al endoperidio). La dehiscencia se produce por ruptura irregular o por desprendimiento del epifragma apical, la liberación de peridiolos es producida por un impacto de gotas de agua sin participación activa del peridio. Los peridiolos son numerosos (excepcional-

Steviana, Vol. 7, 2015, pp. 74 – 78.

Original recibido el 15 de febrero de 2015.

Aceptado el 23 de octubre de 2015.

Campi, M. et al. Cyathus poeppigii nuevo registro para Paraguay

mente uno), que pueden estar o no adheridos al peridio y en general tienen apariencia lenticular. (Domínguez de Toledo, 1993).

El género tiene distribución cosmopolita en países templados y tropicales, pero es raramente encontrado en regiones polares o glaciales (Brodie, 1975). *Cyathus* cuenta con 45 especies con distribución cosmopolita (Kirk *et al.*, 2008). En América del Sur, Brasil registra 21 especies (Cruz & Baseia, 2014), Argentina nueve especies (Moreno & Dios 2014) y Bolivia tres especies (Roccabado *et al.*, 2007). Éste representa el primer registro del género para el Paraguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron muestras colectadas en el Jardín Botánico de Asunción 25° 14' 42.7" S, 57° 34' 28.2" W, correspondiente al departamento Central.

Las muestras colectadas se analizaron en el Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN). Los datos macroscópicos de tamaño y coloración se refieren a material fresco. Para el estudio microscópico de las distintas estructuras, se analizaron preparaciones en KOH al 5%. Se utilizó microscopio óptico binocular Carl Zeiss, con objetivos de 40X y 100X con aceite de inmersión. Las estructuras vegetativas fueron teñidas con floxina y rojo congo. Para el análisis de las reacciones microquímicas se utilizó reactivo de Melzer.

Las fotografías de las estructuras microscópicas fueron tomadas con una cámara digital Sony W730. El material examinado se encuentra depositado en el herbario de la Facultad de Ciencias

Exactas y Naturales, n° 39, FACEN.

RESULTADOS

Cyathus poeppigii Tul. & . Tul. – Annl. Sci. Nat., Bot., sér. 3 1:77 (1844).

= *Cyathia poeppigii* (Tul.) V.S. White, Bulletin of the Torrey Botanical Club 29: 258 (1902)

= *Cyathus plicatulus* Poepp.; *Nidularia plicata* Fr., Linnaea 5:553 (1830)

= *Cyathus ambiguus* Tul. & C. Tul. Ann. Sci. Nat., Bot., sér. 1: 75 (1844)

Basidioma epigeo, en estado inmaduro con forma de copa o cono invertido, porción superior del basidioma globoso, sellada por el epifragma, opérculo circular membranoso, persistente, blanquecino, a la madurez se fragmenta dejando expuestos a los peridiolos. Exoperidio densamente hirsuto, cubierto por pelos erizados y conspicuos castaño claro en muestras secas, se distribuyen uniformemente en toda la superficie. **Estípite** corto 1-2mm de longitud, concolor al exoperidio externo.

Basidioma maduro de 0,5-1,5 cm de alto, infundibuliforme. Exoperidio acanalado, densamente cubierto por pelos cerdosos, gruesos castaño-rojizos de hasta 1 mm de longitud, se encuentran más concentrados hacia la base, no así hacia la porción superior donde se distribuyen de manera irregular. En muestras secas el anillo apical se cierra aislando a los peridiolos, una vez hidratado se abre velozmente. Borde anular ondulado, de 0,3-0,9 cm de diámetro, compuesto por cerdas erectas castaño oscuras o negras. Superficie interna glabra, castaño oscura a grisácea brillante, estriada verticalmente. **Peridiolos** lenticulares de 12-16 unidades,

color gris brillante, de 1-3 mm de diámetro, sin túnica y con cortex biestratificado, capa externa con hifas gruesas de 4-8 μm de diámetro de color castaño dorado, tejido pseudoparenquimático con células irregulares de 15-22 x 10-15 μm , de formas variadas, hialinas de paredes delgadas. **Funículo** cilíndrico central < 1mm de longitud, castaño claro. **Basidiosporas** de 30-50 x 20-30 μm , Q=1.505 (1.14-1.83) N=2, n=30, elipsoidales a globosas, hialinas, congófilas, de pared delgada de 1-2 μm de diámetro.

Observación: Se observaron variaciones en la forma y tamaño de las esporas, cuando se desprenden del basidio presentan formas ovoides con apículo evidente, hialinas, lisas sin contenido citoplasmático de 19-25 x 13,5-19 μm , luego las esporas son rodeadas por hifas especializadas, donde aumentan de tamaño tornándose globosas de hasta 50 μm de diámetro. Las hifas especializadas son hialinas, de 5-7 μm de diámetro, con gúttulos en su interior, onduladas, fibuladas y septadas. Martin (1927), describe el desarrollo de las esporas de *C. stercoreus* con estas características.

Hábitat: Gregarios, en colonias. Saprófitos. Se encontró sobre madera en descomposición.

Material estudiado: Paraguay, Departamento Central, Ciudad de Asunción, Jardín Botánico y Zoológico de

Asunción, 25° 14' 42.7" S, 57° 34' 28.2" W, M. Campi, VIII/2013, n° 39, FACEN.

Distribución: América, África y Asia (Brodie 1975). En Brasil se cita para los Estados de: Rio Grande do Sul (Rick 1961), Santa Catarina (Hennings 1904), Paraná (Meijer 2006) y São Paulo (Bononi *et al.* 1981, Baseia & Milanez 2003), para el Noreste de Brasil (Trierveiler-Pereira & Baseia 2009, 2013), para Bolivia, Departamento de Tarija, (Rocabado *et al.*, 2007) para la Argentina; Buenos Aires (Spegazzini 1881, como *C. ambiguus*; Martínez 1956, Raithelhuber 1974, como *C. ambiguus*,) Chubut: (Raithelhuber 1987, como *C. ambiguus*). Misiones: (Martínez 1956), Rio Negro: (Raithelhuber 1987, como *C. ambiguus*), Salta (Martínez 1956). Este representa el primer registro para Paraguay.

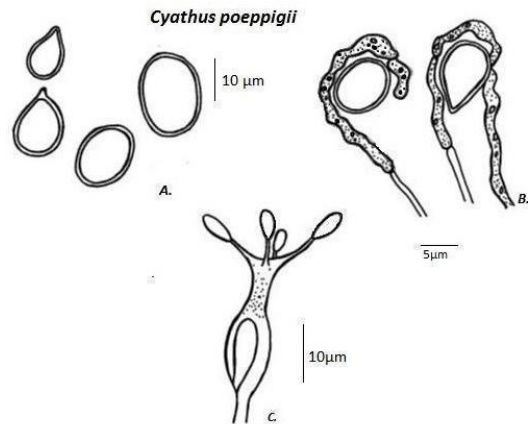


Fig. 1: A. Basidiosporas B. Hifas nurse envolviendo a las esporas C. Basidio

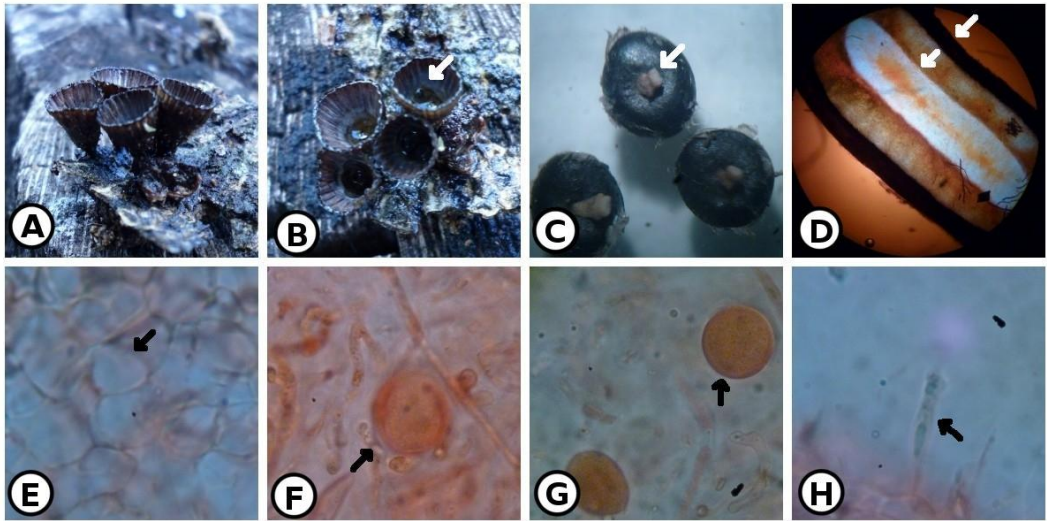


Fig. 2: A y B. Basidioma infundibuliforme C. Peridiolos lenticulares con funículos (flecha) centrales D. Corte transversal del peridiole (flechas: ambas capas del cortex del peridiole) E. Tejido pseudoparenquimatoso del peridiole (flecha) F. Hifas nurse envolviendo a la espora (flecha) G. Basidiospora (flecha) H. Basidio (flecha)

DISCUSIÓN

Cruz et al. (2014), explica que *C. poeppigii* se puede confundir con *C. limbatus* bajo el microscopio, pero en *C. limbatus* las esporas no exceden los 25 μm de longitud. Zhao et al. (2006) explica que *C. poeppigii* es caracterizado por las estriaciones profundas en el interior del peridio, color marrón oscuro o marrón rojizo, con doble cortex en los peridiolos y basidiosporas muy grandes. Brodie (1975) citó: “las esporas del *C. poeppigii* son siempre grandes y variables”. Todos los caracteres observados coinciden con las descripciones de los citados autores, por lo que se concluye que el material estudiado corresponde al *Cyathus poeppigii*, la cual es citada por primera vez para Paraguay.

BIBLIOGRAFÍA

- Baseia, I. G.; Milanez, A. I. 2003. *Cyathus* (Gasteromycetes) in areas of the Brazilian cerrado region, São Paulo State. *Mycotaxon* 80: 493–502.
- Bononi, V.; Trufem, S.; Grandi, R. 1981. Fungos macrocópicos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, Brasil, depositados no Herbário do Instituto de Botânica. *Rickia* 9: 37-53.
- Brodie, H. J. 1975. The bird's nest fungi. University of Toronto Press, Toronto. 199p.
- Cruz, R. F.; Assis, N. M.; Silva, M. A.; Baseia, I. G. 2014. Revision of the genus *Cyathus* (Basidiomycota) from the herbaria of northeast Brazil. *Mycosphere* 5 (4): 531-540.
- Cruz, R. F.; Baseia, M. A. 2014. Four new *Cyathus* species (Nidulariaceae, Basidiomycota, Fungi) from the

- semi-arid region of Brazil. *Journal of the Torrey Botanical Society* 141(2), 173–180.
- Domínguez de Toledo, L. 1993. Gasteromycetes (Eumycota) del Centro y Oeste de la Argentina. I. Análisis crítico de los caracteres taxonómicos, clave de los géneros y orden Podaxales. *Darwiniana* 32(1-4): 195-235.
- Hennigs, P. 1904. Fungi amazonici a. cl. Ernesto Ule collecti: 1. *Hedwigia* 43: 154-186.
- Hibbett, D., Bindera, M., Bischoff, J., Blackwell, M., Cannon, P. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological research* III: 509-547pp.
- Martin, G. W. 1927. Basidia and spores of the Nidulariaceae. *Mycologia* 19(5):239-247.
- Rick, J. 1961. Basidiomycetes Eubasidii no Rio Grande do Sul – Brasília 6. *Iheringia, Série Botânica* 9:451-480.
- Martínez, A. 1956. Las Nidulariales argentinas. *Revista Invest. Agríc.* 10(3): 280-311.
- Raithelhuber, J. 1987. Flora micológica Argentina. Hongos I. Stuttgart. Mycosur. 405p.
- Raithelhuber, J. 1974. Hongos argentinos Tomo I. Hongos de La provincia de Buenos Aires y de La Capital Federal. Compañía Impresora Argentina S.A. Buenos Aires. 157p.
- Rocabado, D.; Wrigth, E.; Maillard, O.; Muchenik, N. 2007. Catálogo de los Gasteromycetes (Fungi:Basidiomycotina) de Bolivia. *Kempffiana* 3(1):3-13.
- Spegazzini, C. 1881. Fungi argentini additis nonnullis brasiliensibus montevidensibusque. Continuacion. *Anales de la Sociedad. Científica. Argentina.* 12: 241-258.
- Trierveiler-Pereira, L.; Baseia, I. G. 2009. Revision of the Herbarium URM IV. Nidulariaceae (Basidiomycota). *Nova Hedwigia* 89(3): 361–369.
- Trierveiler-Pereira, L.; Baseia, I. G. 2013. *Cyathus* species (Basidiomycota: Fungi) from the Atlantic Forest of Pernambuco, Brazil: taxonomy and ecological notes. *Revista. Mexicana. de Biodiversidad.* 84:1-6.
- Zhao, R.L.; Desjardin, D.; Soyong, K.; Hyde, K. D. 2006. Proposed synonyms in *Cyathus*. *Mycotaxon* 97: 327-335.
- Zhao, R.L.; Desjardin D. E.; Soyong, K.; Hyde, K. D. 2008. A new species of bird's nest fungi: characterization of *Cyathus subglobisporus* sp. nov. based on morphological and molecular data. *Persoonia* 21: 71–76.

Especies de *Geastrum* (Geastraceae, Basidiomycota) nuevos registros para Paraguay

Campi, M.¹; Maubet, Y.¹

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción
E mail del autor: geraldine_campi@hotmail.com

Especies de *Geastrum* (Geastraceae, Basidiomycota) nuevos registros para Paraguay. Se citan por primera vez para el Paraguay 4 especies de *Geastrum*, *G. coronatum*, *G. sacatum*, *G. schweinitzii* para el Departamento Central y *G. triplex*, para el Departamento San Pedro. Se describen las características morfológicas macroscópicas y microscópicas distintivas de cada especie, son fotografiados los basidiomas en fresco y visualizadas las esporas con SEM y MO. Se hacen comentarios con respecto a su distribución y taxonomía.

Palabras clave: estrellas de la tierra, Geastrales, micobiota

***Geastrum* species (Geastraceae, Basidiomycota) new records from Paraguay.** Four *Geastrum* species are recorded from Paraguay for the first time: *G. coronatum*, *G. sacatum*, and *G. schweinitzii* for the Central Department; and *G. triplex*, for the Department of San Pedro. Macro and microscopical morphological characteristics distinctive of each species are described, fresh basiomata photographs are presented, and the spores are visualized with SEM and MO. Comments are made regarding their distribution and taxonomy.

Keywords: earth-star fungi, Geastrales, Neotropical mycobiota

INTRODUCCIÓN

Se caracteriza a los hongos gasteoides como grupo polifilético, la cual sus especies pertenecen a diferentes líneas evolutivas. Hibbett *et al.* (2007) los distribuye en varios órdenes que comparten con formas no gasteroides, así los divide en los órdenes *Hysterangiales*, *Geastrales*, *Gomphales* y *Phallales* (Clase Phallomycetidae) y en los órdenes *Agaricales* y *Boletales* (Clase Agaricomycetidae). La familia *Geastraceae* (Phallomycetidae, Basidiomycota) se distribuye en dos géneros: *Geastrum* Pers. y *Myriostoma* Desv. (Sunhede, 1989).

El género *Geastrum* (estrellas de tierra) es caracterizado por basidiomas sub esféricos a esféricos, con un axis central
Steviana, Vol. 7, 2015, pp. 79 – 88.
Original recibido el 15 de febrero de 2015.
Aceptado el 29 de octubre de 2015.

(columella) redondeado por una masa de tejido fértil (gleba) contenido en el peridio, éste está formado por dos capas distinguibles: el exoperidio, que es una membrana externa dura y coriácea que al inicio del desarrollo envuelve al cuerpo endoperidial y cuando el basidioma alcanza la madurez el exoperidio se abre en lacinias (tiras largas e irregulares) adoptando una forma de estrella; y el endoperidio, capa más delicada, que envuelve a la gleba, se abre por un poro u ostiolo por donde son liberadas las basidiosporas (Sunhede, 1989). Con su morfología única, las especies de *Geastrum* representan la evolución de una de las formas de basidiomas más especializados alrededor de los hongo gasteroides (Fazolino, 2009; Kuhar *et al.* 2012). Se registra la presencia de cristales

de oxalato de calcio en la zona de contacto de las superficies externa del endoperidio e interna del exoperidio y se citan como constantes del género que podrían intervenir en la separación de los peridios (Sunhede, 1989; Fazolino, 2009).

Los especímenes de *Geastrum* tienen distribución subcosmopolita. Han sido registradas en todos los continentes excepto en Antártica, y son más abundantes en zonas templadas y en los trópicos. (Ponce de León, 1968; Zamora *et al.* 2014).

El único registro de *Gasteromycetes* conocido hasta la fecha para Paraguay lo hizo Spegazzini (1888) citando al *Lycoperdum lilacinum*, Campi *et al.* (2013) citan al *Geastrum violaceum* para el Departamento Alto Paraná. Para la contribución taxonómica del país se describen a 4 especies de *Geastrum*, estableciéndolos como nuevas citas para el Paraguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron muestras colectadas en el Departamento Central correspondiente al Campus Universitario de la Ciudad de San Lorenzo y en el Departamento San Pedro correspondiente a la Reserva Natural Laguna Blanca, esta última con característica ecológica de bosque sub-húmedo semicaducifolio (Vera, 2011).

Las muestras colectadas se analizaron en el Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN). Los datos macroscópicos de tamaño, coloración y consistencia se refieren a material fresco. Para el estudio microscópico de las distintas estructuras, se analizaron preparaciones en KOH al 5%. Se utilizó

microscopio óptico binocular Carl Zeiss, con objetivos de 40X y 100X con aceite de inmersión. Para la identificación de estructuras fúngicas vegetativas (hifas) y reproductivas (basidios y basidiosporas) éstas, fueron teñidas con floxina y rojo congo. Para el análisis de las reacciones microquímicas se utilizó reactivo de Melzer. El microscopio electrónico utilizado es Zeiss DSM-950, se empleó la técnica del punto crítico para la observación de la ornamentación esporal. El material examinado está conservado en el herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN) de la Universidad Nacional de Asunción y un duplicado el herbario de la Universidad de Alcalá de Henares (AH).

RESULTADOS

Geastrum coronatum Pers., Syn. Meth. Fung.: 132. 1801 (Figs. 1-2)

Sinónimos: *Geastrum limbatum* Fr. Syst. Mycol. 3:15- 16, 1829, *Geastrum atratum* Smarda Cesk. Mykol. 1:71-74. 1947

Basidioma maduro epigeo, pequeño a mediano, con forma de estrella de tierra, de 2,5-5 cm diámetro. **Exoperidio** con forma de estrella, se fragmenta en 6 a 10 lacinias o rayos. Lacinias no higroscópicas, arqueándose hacia la base en seco, triangulares, agudas, cortas en la madurez, de 1-1,5 cm de longitud, en seco papiráceas y se rajan verticalmente al curvarse exponiendo las tres capas. **Tejido miceliar** con abundante detrito e incrustaciones del sustrato, beige-marrón, compuesto por hifas hialinas, de 2-3,5 µm de diámetro, con ornamentación, de paredes delgadas, se encuentra adherido fuertemente al **tejido fibroso** papiráceo,

Campi, M. et al. Especies de Geastrum nuevos registros para Paraguay

coriáceo, blanco amari-lento, hifas del tejido fibroso de paredes gruesas de hasta 1 µm de grosor, de 2,5-5 µm de diámetro, paralelas, lisas, hialinas con luz estrecha, fuertemente entrelazadas entre sí. **Tejido pseudoparenquimatoso** de 5 mm de grosor, marrón tabaco en fresco, aclarándose en la muestra seca, gris a beige, compuesto por células redondeadas, de 21-44 x 32-51 µm, isodiamétricas, angulosas, hialinas. **Endoperidio:** subgloboso a ovoide, en algunas muestras lateralmente comprimido, liso, blanquecino grisáceo a gris oscuro cuando maduro, de 1,5-2,3 cm de alto x 0,9-1,5 cm de diámetro, en el ápice del endoperidio se distingue el peristoma delimitado de 0,5 cm de diámetro, fimbrinado, mamiforme, blanquecino alrededor del ostiolo, más internamente, presenta una circunferencia de color beige, oscureciéndose al llegar al ápice fimbrinado del ostiolo de 0,1-0,2 mm de altura, donde se torna de color gris oscuro a negro por liberación de esporas. En muestras secas en la unión con el estípite se distingue el apófisis sostenida por el **estípite** de hasta 0,2 cm de altura, de color gris parduzco, pruinoso, cubierto por pequeñas partículas brillantes, a la madurez se oscurece a negro cuando se cubre de esporas. **Collumela** ausente. Gleba madura de color pardo oscuro. **Hifas del capilicio** de 2,5-8 µm de diámetro, pardas a doradas en KOH, de paredes delgadas, ornamentadas. **Basidioporas** globosas de 5,7-7 µm de diámetro, ornamentadas, puntiagu-das, doradas, con gútula redondeada central.

Observación: No se encontraron muestras inmaduras en el lugar de colecta. Sunhede, (1989) explica que existe gran variación en cuanto al tamaño, número de

rayos y la forma del cuerpo endoperidial. Según la misma autora las especies más cercanas por semejanza en su morfología son: *G. minimun*, se diferencian porque éste último presenta menor tamaño, en *G. coronatum* el cuerpo endoperidial se vuelve más oscuro y opaco que en *G. minimun*. *G. rufescens* y *G. coronatum* tienen muchas características en común: el tamaño, la forma general del basidioma y el comportamiento de “falsa higroscopicidad”, en cuanto a las diferencias más evidentes son que en *G. rufescens*, el tejido pseudoparenquimatoso presenta coloración rojiza y su peristoma no está bien definido, al contrario que el *G. coronatum* cuyo tejido pseudoparenquimatoso no está pigmentado y su peristoma se encuentra delimitado. Tomando en cuenta las consideraciones de Sunhede (1989), se concluye que la especie colectada, corresponde al *G. coronatum*.

Hábitat: Gregarios. Crecen sobre la tierra entre poaceas y hojarascas. Suelo rico en humus y detritos.

Material estudiado: Paraguay, Departamento Central, Ciudad de San Lorenzo, Campus Universitario, 26° 20' 8.1" S, 57° 31' 13.8" W, X/2013, M. Campi, n° 32, FACEN.

Distribución: Ponce de León (1968) lo cita como de distribución Pantropical. En Brasil se cita para los Estados de: Rio Grande do Sul (Rick 1961) y Pernambuco (Leite *et al.* 2007); Calonge, *et al.* (2005) citan para Costa Rica. Este registro constituye el primero para Paraguay.

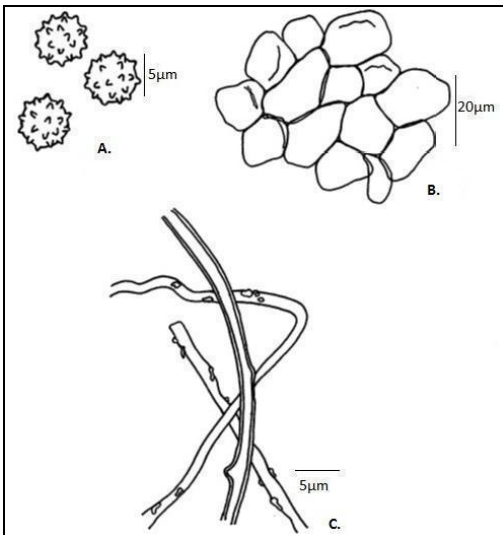


Fig. 1: Caracteres microscópicos de *Geastrum coronatum*. **A.** Basidiosporas globosas. **B.** Tejido pseudoparenquimatoso **C.** Hifas del capilicio con incrustaciones

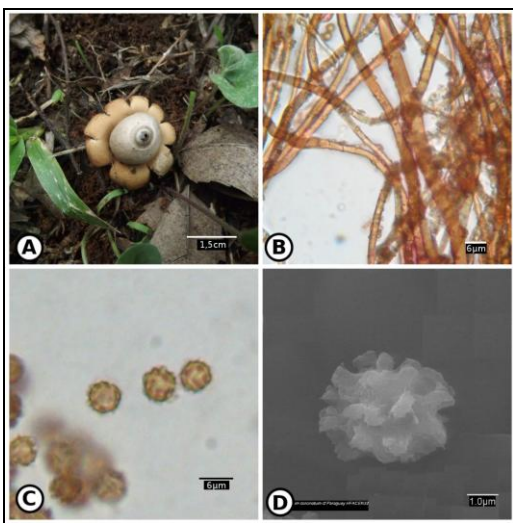


Fig. 2: *Geastrum coronatum*. **A.** Basidioma maduro, epigeo (in situ). **B.** Hifas del capilicio al MO 1000X **C.** Basidiosporas al MO 1000X. **D.** Basidiosporas al ME

Geastrum saccatum Fr., Systema Mycologicum 3: 16 (1829) (Figs. 3 - 4)

Basidioma inmaduro epigeo, mamiforme 0,5-1,3 de diámetro x 0,8-1,5 de alto, globoso, con forma de cebolla o langeriforme y umbon apical prominente de 0,3-0,4 cm de alto con terminación puntiaguada. Superficie lisa o con pequeñas escamas blanquecinas a crema, micelio basal fibroso, blanquesino, adherido al sustrato. Corte longitudinal del basidioma inmaduro: endoperidio delgado, grisáceo, envolviendo la gleba, fácilmente separable del exoperidio, collumela redondeada, grisácea a beige, gleba grisácea, gomosa. **Basidioma maduro:** epigeo 1,5-4 cm de diámetro, con forma de estrella y de 8-12 lacinias o rayos irregulares, no higroscópico, en muestras frescas se recurvan hacia la base, en algunas muestras secas se recurvan hacia el endoperidio. **Tejido miceliar** blanquecino grisáceo sin detritos o incrustaciones, delgado, color blanquecino grisáceo, en especímenes viejos marrón claro, compuesto por hifas de 1,5-3,5 µm de diámetro, de pared delgada, fibuladas. **Tejido fibroso** delgado, beige, compacto, fuertemente adherido al tejido miceliar, compuesto por hifas de 1,5-5 µm de diámetro, marrones de pared delgada, fibuladas. **Tejido pseudoparenquimatoso** blanquecino a plateado cuando fresco, liso, elástico, marrón grisáceo cuando seco, coriáceo, compuesto por hifas hialinas de 30-67 x 35-73 µm de diámetro, irregular, redondeada a elongada con contenido citoplasmático. **Endoperidio** de 1-2 cm de diámetro x 0,7-0,9 cm de alto, sésil, ovoide, sin apófisis, en fresco color gris perlado, en seco marrón grisáceo. **Peristoma** de 0,5-0,7 cm fimbrinado, delimitado, mamiforme, concolor al endoperidio, delimitado por una línea marrón grisácea. **Gleba** a la madurez

Campi, M. et al. Especies de *Geastrum* nuevos registros para Paraguay

pulvorienta gris oscuro. **Capa endoperidial** compuesta por hifas 4-5µm de pared gruesa de 2 µm y lumen estrecho, hialinas o amarillentas, fuertemente entrelazadas. Hifas del capilicio de (3,5-) 4-5 µm de diámetro, con ornamentación, de color ocre-amarillentas, lumen estrecho. **Basidiosporas** de (4,5-) 5-6 µm globosas con ornamentación espinosa, amarillentas doradas cuando inmaduras, marrón cuando maduras.

Observaciones: Sunhede (1989), menciona que *G. saccatum* y *G. fimbrinatum* tienen muchas características en común como por ejemplo basidiomas no higroscópicos, tamaños similares, endoperidio sésil de la misma forma y color, sin embargo difieren en que el *G. saccatum* es más pequeño y tiene tejido miceliar marrón sin incrustaciones de sustrato, mientras que en el *G. fimbrinatum* generalmente este tejido se encuentra con incrustaciones de sustrato fuertemente adheridas. Ochoa & Moreno (2006) mencionan que el *G. fimbrinatum* no presenta peristoma delimitado y sus esporas son más pequeñas.

Hábitat: Creciendo sobre hojarasca y suelo rico en material orgánico, saprófito. En el espécimen inmaduro el micelio estaba fuertemente unido al sustrato de hojarasca o suelo, en las muestras maduras no se encontraron resto de micelio basal. No se observaron basidios en la muestra inmadura.

Material examinado: Paraguay, Departamento Central, Ciudad de San Lorenzo, Campus Universitario, 22.III.2014, M. Campi, n° 46, FACEN.

Distribución: en Brasil para los Estados de Rio Grande do Sul (Rick 1961, Baseia *et al.* 2003), Paraná (Meijer 2006), São Paulo (Baseia *et al.* 2003), Pernambuco (Baseia *et al.* 2004), Paraíba (Baseia *et al.* 2004), Rio Grande do Norte (Leite & Baseia 2007) y Amazonas (Hennings 1904). En Bolivia (Rocabado *et al.* 2007) para los Departamentos de Tarija (Fries 1909) y Santa Cruz (Calonge *et al.* 2000). En Argentina: Provincia de La Rioja (Kuhar *et al.* 2012). Este representa el primer registro para el Paraguay.

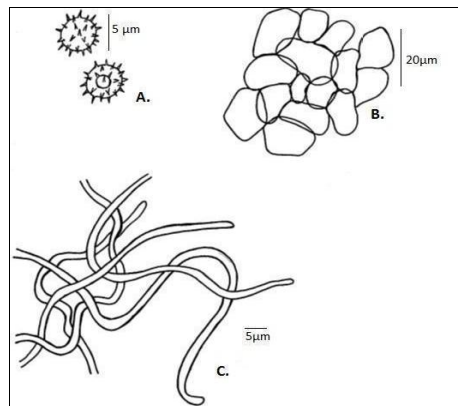


Fig. 3: *Geastrum saccatum*. **A.** Basidiosporas globosas, ornamentadas con espinas **B.** Hifas del tejido pseudoparenquimatoso con diversas formas y tamaños. **C.** Hifas del tejido miceliar

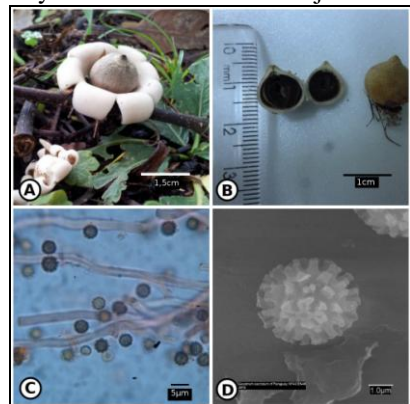


Fig. 4: *Geastrum saccatum*. **A** Basidioma maduro **B** Basidioma inmaduro **C** Basidiosporas en MO **D** Basidiosporas en ME

Geastrum schweinitzii (Berk. & M.A. Curtis) Zeller, Mycotaxon 40: 649, 1948. (Figs. 5 - 6)

Basidioma inmaduro globoso a subgloboso de 0,5-1 cm de diámetro X 0,3-0,5 cm de alto, presenta un ligero umbon apical en una depresión central. Tejido externo con protuberancias concoloras al basidioma inmaduro, amarillento grisáceo a marrón rojizo. Corte transversal: color blanco amarillento, no se distingue la columella. Epigeo, surge de un subículo de micelio blanco, espeso, tormentoso y flexible, que cubre el sustrato (madera), estrechamente adherido al tejido miceliar, cespitoso, con muchos especímenes. **Basidioma maduro** expandido de pequeño tamaño con forma de estrella de 0,6-1,2 cm de alto x 0,3-1cm de diámetro. **Exoperidio** saculiforme, de color beige oscuro que se abre en forma de estrella desde la zona apical, en 6 a 8 lacinias triangulares, cortas en la madurez, de 0,5 cm de longitud, color beige oscuro en la parte exterior y en el interior marrón tabaco; no higroscópico, en seco papiráceas de color beige, se doblan levemente hacia la base cuando seco. **Tejido miceliar** sin detritos ni incrustaciones, liso, fuertemente adherido al **tejido fibroso**, ambos de color beige oscuro a blanco amarillento, hifas del tejido miceliar de 4-10 μm de diámetro, hialinas, de pared delgada, con lumen estrecho, septadas, fibuladas; hifas del tejido fibroso de 3-5 μm de diámetro, paralelas, lisas, hialinas con luz estrecha, fuertemente entrelazadas entre sí, **tejido pseudoparenquimatoso** de color naranja a marrón rojizo, se desprenden con facilidad de la capa fibrosa y miceliar, fina y ligeramente quebradiza en seco, células angulosas, redondeadas a isodiamétricas de

30-60 x 20-45 μm , hialinas. **Endoperidio**: globoso de color grisáceo, sécil, sin apófisis, de 0,5- 0,6 cm de diámetro, en el ápice del endoperidio se distingue el peristoma bien delimitado de 3 mm de diámetro, fimbrinado, mamiforme, ligeramente más oscuro que el endoperidio coronado por el **ostiolo** fimbrinado de 1mm de altura. **Columela**: ausente en la madurez, gleba blanquecina en estado inmaduro tornándose castaño oscuro en la madurez. **Hifas del capilicio** de 3-7 μm de diámetro, amarillento/verdosas en KOH, sin lumen, sólidas, con ornamentaciones o incrustaciones en la superficie. **Basidioporas** 3-5 μm de diámetro, globosas, verrugosas, marrón a marrón dorado, con gútula redondeada en su interior y un corto pedicelo en el ápice. Esporas inmaduras hialinas, primero subovoides, luego globosas. **Basidios** 25-35 μm de longitud con diversas formas, se ensanchan en la base a modo de botella para luego constreñirse e incurvarse en forma de L donde se ven fíbulas. Esterigmas (4-6), 2 μm de largo x 1 μm de ancho. Basidios inmaduros langeriformes, rectos o incurvados, isodiamétricos o ensanchados, con terminación redondeada.

Observaciones: *G. schweinitzii* es reconocida por los basidiomas cespitosos de pequeño tamaño y por la presencia del subículo blanco a amarillento, tormentoso que se expande por todo el sustrato, que en general se trata de madera en descomposición. Sousa *et al.* (2014) comentan que es característico de la especie el hábito lignícola, la presencia de un prominente subículo amarillento-blanquecino, el crecimiento cespitoso y la presencia del peristoma delimitado y

Campi, M. et al. Especies de *Geastrum* nuevos registros para Paraguay

fibroso. Teniendo en cuenta estas consideraciones morfológicas se concluye que la especie estudiada coincide con la de *G. schweinitzii*.

Hábitat: Gregarios, cespitosos. Crecen sobre madera en descomposición formando un subículo (manta micelial) blanquecino. Suelo rico en humus y detritos.

Material estudiado: Paraguay, Departamento Central, Ciudad de San Lorenzo, Campus Universitario, 26° 20' 8.16" S, 57° 31' 13.8" W, VII/2012, M. Campi, n° 33, FACEN.

Distribución: Ponce de León (1968), lo cita como de distribución Pantropical. Bononi *et al.* (1981) & Baseia *et al.* (2004) citan para el estado de São Paulo, Fazolino Perez (2009) cita para el estado de Río Grande do Norte, Calonge *et al.* (2005) cita a este especie como la más abundante del género en Costa Rica. Se considera a esta especie como nuevo registro para Paraguay.

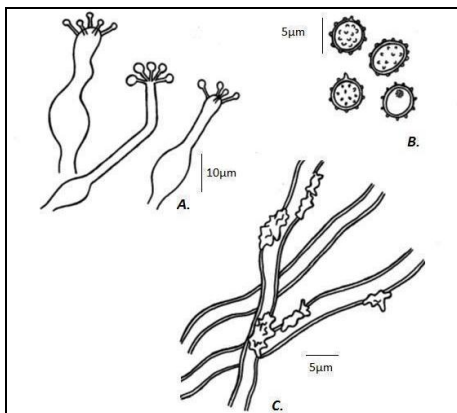


Fig. 5: *Geastrum schweinitzii*. A. Basidios B. Basidiosporas globosas, verrugosas en MO C. Hifas del capilicio

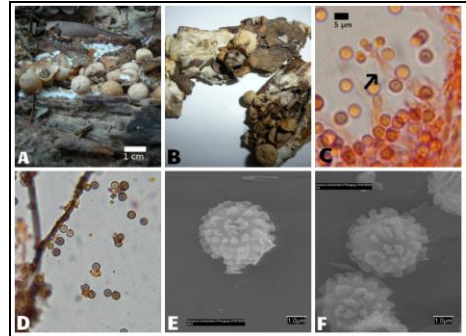


Fig. 6: *Geastrum schweinitzii*. A-B Basidioma maduro formando una manta micelial. C. Basidio D. Basidiosporas M.O E-F Basidiosporas M.E

Geastrum triplex Jungh. in Tijdschr. Natuurl. Gesch. Physiol. 7: 287. 1840. (Figs. 7-8)

Basidioma maduro expandido de mediano a gran tamaño con forma de estrella de tres capas, de 4 cm de alto x 6,5 de diámetro. **Exoperidio** saculiforme, de color marrón-rojizo que se abre en forma de estrella desde la zona apical, en 5 a 8 rayos. Las lacinias son triangulares, puntiagudas, largas en la madurez, de 2,5-4 cm de longitud, color beige oscuro rojizo en la parte exterior y en el interior marrón; no higroscópicas, en seco papiráceas de color marrón oscuro, involuto, se doblan levemente curvándose hacia la base, las lacinias se fisuran horizontalmente cuando se curvan. **Tejido micelial** sin detritos ni incrustaciones, liso, de color marrón rojizo, hifas del tejido micelial de 1,5-5 µm de diámetro hialinas, de pared delgada, con lumen estrecho, fibuladas. **Tejido fibroso** papiráceo, coriáceo, gris amarillento, hifas del tejido fibroso de 2,5-5 µm de diámetro, paralelas, lisas, hialinas con luz estrecha, fuertemente entrelazadas entre sí, **tejido pseudoparenquimatoso** de color marrón claro con zonas o manchas violetas oscuras

en fresco, oscureciéndose en la muestra seca; de 5 mm de grosor, se desprende del tejido miceliar y fibroso y forma un collar alrededor del endoperidio lo que da aspecto de tres capas, las células redondeadas a isodiamétricas de 15-35 x 15-30 μm , hialinas. **Endoperidio:** subgloboso, ovados a piriformes, lisos de color blanquecino grisáceo a gris oscuro cuando maduro, sécil sin apófisis, de 2-2,5 cm de alto x 2,5-3 cm de diámetro, en el ápice del endoperidio se distingue el peristoma bien delimitado de 8-10 mm de diámetro, fimbrinado, mamiforme, blanquecino coronado por el **ostiolo** fimbrinado gris oscuro de 3 mm de diámetro. **Collumela:** grisácea, frágil. Gleba madura de color marrón oscuro. **Hifas del capilicio** de 1,5-7 μm de diámetro, amarillento/doradas en KOH, sin lumen, sólidas, con ornamentaciones o incrustaciones en la superficie. **Basidioporas** 5-6 μm de diámetro, ornamentadas puntiagudas, marrón dorado, con gútula redondeada en su interior y un corto pedicelo en el ápice.

Observación: No se encontraron muestras inmaduras en el lugar de colecta. El collar pseudoparenquimatoso alrededor del endoperidio es la característica más notable de la especie. Sunhede (1989) comenta que el collar pseudoparenquimatoso está normalmente presente en especímenes maduros expandidos, pero en especímenes secos antes de llegar a la madurez, puede no desarrollarse.

Hábitat: Gregarios o solitarios. Crecen sobre hojarasca en suelos ricos en humus y detritos, también se los encuentra en pastizales bajos.

Material estudiado: Paraguay, Departamento San Pedro, Ciudad de Santa Rosa de Aguaray Guazu, **23°49'17,1" S; 56° 17'52,6" W**, IV/2012, M. Campi, n°24, FACEN.

Distribución: Ponce de León (1968) lo cita como de distribución Pantropical. En Brasil citan a la especie para los Estados de: Rio Grande do Sul (Rick 1961), Santa Catarina (Sobestiansky 2005), Paraná (Meijer 2006), São Paulo (Baseia *et al.* 2004), Rio Grande do Norte (Leite & Baseia 2007); para la Argentina, Soto & Wright (2000); Wright & Albertó (2006) lo citan para la Provincia de Buenos Aires, Hernandez-Caffót (2013), cita para la Provincia de Córdoba; Calonge *et al.* (2005) cita para Costa Rica. Este registro constituye el primero para Paraguay.

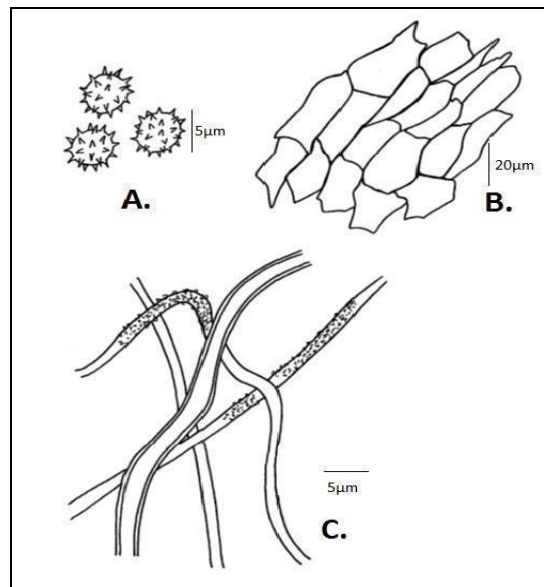


Fig. 7: *Geastrum triplex* A. Basidiosporas con ornamentaciones puntiagudas B. Tejido pseudoparenquimatoso C. Hifas del capilicio con incrustaciones en la superficie

Campi, M. et al. Especies de *Geastrum* nuevos registros para Paraguay

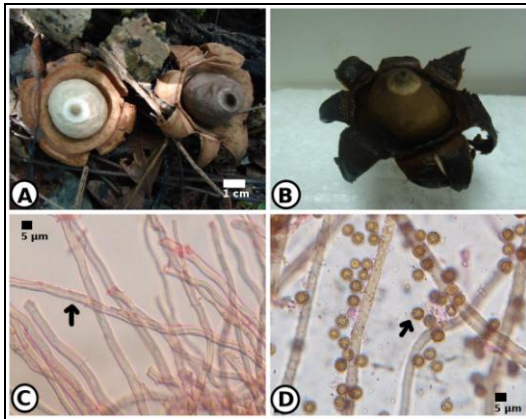


Fig. 8: *Geastrum triplex*. A y B Basidioma maduro C Hifas del capilicio D Basidiosporas

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los Técnicos del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Alcalá de Henares y al Doctor Gabriel Moreno por su invaluable ayuda en la preparación de las muestras con punto crítico y por la realización de las micrografías con el microscopio electrónico de barrido (M.E.B).

También agradecemos a la Dra. Larissa Trierveiler Pereira, por la ayuda con las identificaciones de los especímenes.

BIBLIOGRAFÍA

- Baseia, I.; Milanez, A. 2003. *Geastrum setiferum* (Gasteromycetes): a new species with a setose endoperidium. *Mycotaxon*, 84: 135-140.
- Baseia I.G; Cavalcanti M.A; Milanez A.I. 2004. Additions to our knowledge of the genus *Geastrum* (Phallales: Geastraceae) in Brazil. *Mycotaxon* 85: 409-416.
- Bononi, V.; Trufem, S.; Grandi, R. 1981. Fungos macrocópicos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São

Paulo, Brasil, depositados no Herbário do Instituto de Botânica. *Rickia* 9: 37-53.

- Calonge, F.D.; Moreno-Arroyo, B.; Gómez, J. 2000. Aportación al conocimiento de los Gasteromycetes, Basidiomycotina, de Bolivia (América del Sur). *Geastrum ovalisporum* sp. *Boletín de la Sociedad Micológica de Madrid* 25: 271-276.
- Calonge, F.D.; Mata, M.; Carraza, J. 2005. Contribución al catálogo de los Gasteromycetes (Basidiomycotina, Fungi) de Costa Rica. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 62(1): 23-45.
- Campi, M; De Madrignac, B; Flecha, Gullón, M; A; Ortellado, A. 2013. *Geastrum violaceum* Rick (Geastraceae, Basidiomycota): nuevo registro para Paraguay. *Reportes Científicos*. 4(2): 15-18.
- Fazolino, E. P. 2009. O gênero *Geastrum* Pers. (Phallomycetidae, Basidiomycota) em algumas áreas de Mata Atlântica e Caatinga no Rio Grande do Norte, Brasil. Tese M.S. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande Do Norte.
- Fries, R. 1909. Über einige Gasteromyceten aus Bolivien und Argentinien. *Arkiv für Botanik* 8:1 34.
- Hennigs, P. 1904. Fungi amazonici a. cl. Ernesto Ule collecti: 1. Fungi amazonici a. cl. Ernesto Ule collecti: 1. *Hedwigia* 43: 154-186.
- Hernandez-Caffot, M.; Robledo, G.; Dominguez, L. 2013. Gasteroid mycobiota (Basidiomycota) from *Polypepsis australis* woodlands of central Argentina. *Mycotaxon* 123:491-499.
- Hibbett, D. S.; Binder, M., Bischoff, J. F.; Blackwell, M; Cannon, P. F.; Eriksson,

- O. E.; Huhndorf, S.; James, T; Kirk, P. M. *et. al.* 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol Res.* 111(5):509-47
- Kuhar, F.; Castiglia, V.; Papinutti, L. 2012. *Geastrum* species of the La Rioja province, Argentina. *Mycotaxon* 122:145-156.
- Leite, A., Calonge, F. & Baseia, I. 2007. Additional studies on *Geastrum* from northeastern Brazil. *Mycotaxon* 101:103-111.
- Meijer, A. 2006. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian State of Paraná. *Boletim do Museo Botánico Municipal* 68:1-59.
- Moreno, G.; García, J.; Zugaza, A. 1986. La guía de INCAFO de los hongos de la Península Ibérica. Editorial INCAFOS. Madrid. 1207-1208 p.
- Ochoa, C; Moreno, G. 2006. Hongos gasteroides y secotoides de Baja California, México. *Boletín de la Sociedad Micológica de Madrid* 30: 121-166.
- Ponce de León, P. 1968. A revision of the Geastraceae. *Fieldiana, Botany* 31: 303-349
- Rick, J. 1961. Basidiomycetes Eubasidii no Rio Grande do Sul – Brasília 6. *Iheringia, Série Botânica* 9:451-480.
- Rocabado, D.; Wright, E.; Maillard, O.; Muchenik, N. 2007. Catalogo de los Gasteromycetes (Fungi:Basidiomycotina) de Bolivia. *Kempffiana* 3(1):3-13.
- Sobestiansky, G. 2005. Contribution to a macromycetes survey of the States of Rio Grande do Sul and Santa Catarina in Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48:437-457.
- Soto, M.; Wright, J.E. 2000. Taxonomía del género *Geastrum* (Basidiomycetes, Lycoperdales) en la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 34:185-201.
- Spegazzini, C. 1888. Fungi Guaranitici. *Anales de la Sociedad Científica Argentina.* Tomo XXVI:1-74.
- Sunhede, S. 1989. Geastraceae (Basidiomycotina) morphology, ecology and systematics with emphasis on the north European species. *Synopsis Fungorum* 1. Oslo: Fungiflora. 535pp.
- Trierveiler-Pereira, L. & Baseia, I.G. 2009. A checklist of the Brazilian gasteroid fungi (Basidiomycota). *Mycotaxon* 108:441-444.
- Trierveiler-Pereira, L. & Baseia, I.G. 2010. Contribution to the knowledge of gasteroid fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) from the state of Paraíba, Brazil. *Brazilian Journal of Biosciences* 9(2):167-173.
- Trierveiler-Pereira, L., Calonge, D. & Baseia, I. 2011. New distributional data on *Geastrum* (Geastraceae, Basidiomycota) from Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 25(3): 577-585.
- Wright, J.; Albertó, E. 2006. Hongos de la Región Pampeana. II. Hongos sin laminillas. Buenos Aires: L.O.L.A. 412 p.
- Zamora, J.C; Calonge, F; Hosaka, K; Martín, M. P. 2014. Systematics of the genus *Geastrum* (Fungi: Basidiomycota) revisited. *Taxon* 63 (3): 477-497.

Análisis de hongos filamentosos presentes en plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya

Reyes, M.¹; Moura Mendes Arrúa, J.^{1,2}; Casal, C. C.²; Fernández Ríos, D.¹; Martínez, L.¹; Cabrera, M.¹; Arrúa Alvarenga, P. D.²; Arrua Alvarenga, A. A.^{1,2}

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

²Laboratorio de Biotecnología, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT), Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica (DGICT), Universidad Nacional de Asunción (UNA)

E-mail del autor: arrua@facen.una.py

Análisis de hongos filamentosos presentes en plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya. En Paraguay, el consumo de plantas medicinales en forma de infusión o como parte del mate o tereré es muy difundido. Durante su producción y procesamiento, estos productos se ven expuestos al ataque de microorganismos, entre ellos los hongos filamentosos. Con el objetivo de determinar la incidencia de hongos filamentosos, se sembraron en medio de cultivo 11 plantas medicinales. Los hongos presentes fueron identificados por microscopía mediante el uso de claves taxonómicas. Se hallaron 15 géneros de hongos, siendo *Rhizopus* y *Aspergillus* Sección *Flavi* los más importantes. Este trabajo pretende contribuir a la base científica de futuras regulaciones que permitan proteger a los consumidores mediante el aseguramiento de la calidad del producto final.

Palabras clave: inocuidad alimentaria, consumo masivo, plantas medicinales

Analysis of filamentous fungi present in medicinal plants used in the Paraguayan pharmacopeia. In Paraguay, consumption of medicinal herbs as infusion is widespread. During production and processing, these products are exposed to attack by microorganisms, including filamentous fungi. In order to determine the incidence of filamentous fungi, 12 medicinal herbs were placed in a culture medium. The fungi were identified by microscopy through taxonomic keys. 15 genera of fungi were found, being *Rhizopus* and *Aspergillus* Section *Flavi* the principal presente. The focus of this experiment is to contribute to the scientific basis of future regulations designed to protect consumers by ensuring the quality of the final product.

Keywords: food safety, consumer products, medicinal herbs

INTRODUCCIÓN

El consumo de plantas medicinales es una de las tradiciones más arraigadas en nuestro país, ya sea acompañando al mate, al tereré o en forma de infusión, y forma parte de la cultura popular (Jerke, Horianski y Salvatierra 2009; Jerke, Salvatierra y Bargardi 2009; Sánchez, González y Lurá 2006).

La calidad y el cuidado durante el procesamiento de estas plantas son fundamentales para el mantenimiento de la inocuidad y la características organolépticas del producto final (Jerke *et al.* 2011).

Durante el cultivo y procesamiento de las plantas medicinales, éstas se ven expuestas al ataque de microorganismos. Entre ellos se encuentran los hongos

Steviana, Vol. 7, 2015, pp. 89 – 95.

Original recibido el 26 de junio de 2015.

Aceptado el 25 de noviembre de 2015.

filamentosos y en particular los potencialmente productores de micotoxinas, que mes llamados micotoxicosis, y que en casos extremos pueden llevar a la muerte (Arrúa Alvarenga *et al.* 2013; Arrúa Alvarenga, Moura Mendes, y Fernández Ríos 2013).

Las aflatoxinas, producidas por hongos del género *Aspergillus* Sección *Flavi*, está categorizada por el IARC (*International Agency for Research on Cancer*) dentro del Grupo 1, carcinogénicas para humanos. Poseen además efectos mutagénicos, actúan sobre el metabolismo, sistema respiratorio e inmune (IARC 1993).

Las ocratoxinas, son producidas por hongos de los géneros *Aspergillus* Sección *Nigri* y *Penicillium*. El IARC, las categoriza como Grupo 2B, posible carcinógeno en humanos. Posesen efectos nefrotóxicos, inmunotóxicos y neurotóxicos (Castegnaro y Wild 1995; IARC 1993).

En cuanto a las toxinas producidas por *Fusarium*, las mismas poseen diferentes efectos en animales y humanos. Posesen efectos sobre el sistema inmune, gastrointestinal y reproductivo. No hay evidencia que pruebe su acción cancerígena (IARC 1993).

Existen trabajos previos a nivel internacional que han demostrado la presencia de hongos filamentosos en hierbas medicinales. Sánchez, González y Lurá (2006) reportaron la presencia de *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp. entre otros, en productos medicinales a base de diferentes hierbas incluyendo malva, poleo, ruda, estigma de maíz, boldo, menta y manzanilla.

En 2007 Romagnoli *et al.* estudiaron el contenido de aflatoxinas en 27 especies

son metabolitos secundarios tóxicos a los seres humanos capaces de causar síndrome aromáticas, 28 especies y 48 preparados de infusiones colectadas durante cinco años en centros de venta en Italia. Ninguna de las muestras de hierbas medicinales presentó contaminación con aflatoxinas, incluso las provenientes de países tropicales.

Sin embargo en un trabajo posterior, realizado entre 2011 y 2013 en Korea (Lee *et al.* 2014), investigando 729 muestras de 19 tipos de plantas medicinales, encontraron 65 muestras contaminadas con AFB1, 24 con AFB2, 15 con AFG1 y 20 con AFG2, en rangos de contenido variables.

En 2009 Jerke, Salvatierra y Bargardi determinaron la presencia de cuatro especies de *Aspergillus* en te negro (*Camelia sinensis*).

En Paraguay se ha reportado la presencia de hongos filamentosos potencialmente productores de micotoxinas en yerba mate compuesta, siendo los principales géneros presentes *Aspergillus* y *Fusarium* (Pérez Paiva *et al.* 2013).

Hasta el momento no se han realizado estudios de la microbiota presente en plantas medicinales que se comercializan en la Zona de Gran Asunción.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de analizar las especies de hongos filamentosos presentes, especialmente de aquellos que son productores de micotoxinas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta y procesamiento de muestras

Se colectaron muestras comerciales en cincoclocales de venta de alimentos del área

metropolitana de Asunción muestras empaquetadas comerciales de cinco diferentes marcas comerciales de diferentes lotes de Tilo, *Justicia pectoralis*, Menta'i, *Mentha x piperita* L., Cedrón, *Aloysia triphylla* (Gris.) Mold., Burrito, *Aloysia polystachya*, Katuava, *Psidium cinereum*, *Equisetum giganteum* L. (Cola de Caballo), *Melissa officinalis* L. (Toronjil), Laurel, *Laurus* sp., *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. (Salvia), *Moringa oleífera* (Moringa) y Ñangapiry, *Eugenia* sp. (Pin *et al.* 2009); según especificaciones de los fabricantes. Las muestras fueron transportadas al laboratorio manteniendo condiciones de almacenamiento adecuadas que aseguren su integridad (Sánchez, González y Lurá 2006).

La determinación de la carga microbiana se llevó a cabo mediante recuentos microbiológicos en superficie. Los resultados se expresaron como porcentaje de incidencia de hongos filamentosos presentes en las diferentes hierbas estudiadas.

Para su procesamiento, las muestras desinfectadas con hipoclorito de sodio al 6% y enjuagadas tres veces en agua destilada esterilizada. Posteriormente fueron secadas y sembradas, diez muestras por placa, por triplicado, en medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Las muestras se incubaron a 27 °C por siete días (Arrúa Alvarenga *et al.* 2014).

Identificación de la microbiota presente

Al término de los siete días, se observaron las características macro y micromorfológicas de las colonias y las mismas se identificaron por medio de claves taxonómicas (Barnett y Hunter 1998).

Una vez efectuados los recuentos de los hongos filamentosos, se procedió a aislar cada una de las colonias macroscópicamente diferentes y se procedió a la re confirmación de los géneros identificados mediante el uso de claves taxonómicas (Arrúa Alvarenga *et al.* 2014; Barnett y Hunter 1998). No se identificaron hongos levaduriformes. Todas las cepas se conservaron a 4 °C.

Análisis estadístico

La incidencia fue calculada a través del estudio de la frecuencia absoluta. Se realizó el análisis de varianza utilizando el Test LSD Fisher con 95% de intervalo de confianza (Marasas *et al.* 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El consumo de hierbas medicinales es acompañando a bebidas tradicionales como el tereré o el mate, es parte de la vida cotidiana en Paraguay. En este trabajo se analizaron muestras de hierbas medicinales fraccionadas y envasadas por diferentes empresas habilitadas por la autoridad competente (Sánchez, González y Lurá 2006). Las hierbas presentes en cada producto se consideraron según las indicaciones de los fabricantes.

En los rótulos de las muestras analizadas no se encontraron indicaciones respecto a su acción farmacológica ni contraindicaciones respecto a su uso, número de lote y fecha de vencimiento.

En las especies estudiadas se identificaron 16 géneros de hongos y en incidencias variables en las diferentes especies de plantas medicinales estudiadas.

En Moringa, A. Sección *Flavi*, *Bipolaris* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp. (Fig). En Tilo se identificaron

Trichoderma sp. Y *Aspergillus* Sección *Flavi*. En Menta'i, *Rhizopus* sp.; en Burrito, *Rhizopus* sp. Y *Fusarium* sp. En Cedrón Paraguay, *Cladosporium* sp. (Fig) y *Rhizopus* sp. En Katuava, *Fusarium* sp. (Fig. 6), *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., A. Sección *Nigri* (Fig. 7) y *Trichoderma* sp. En Cola de Caballo, *Rhizopus* sp., A. Sección *Flavi*, *Thielaviopsis* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Nigrospora* sp. (Fig. 8) y A. Sección *Nigri*. En Toronjil, *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. y A. Sección *Flavi*. En Salvia, *Cladosporium* sp., *Phoma* sp. y A. Sección *Flavi*. En Laurel, *Mucor* sp., *Rhizopus* sp. Y A. Sección *Flavi*. En Ñangapiry, A. Sección *Flavi*, A. Sección *Nigri*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. y *Coryneum* sp.

Los hongos identificados en las hierbas medicinales comerciales estudiadas, coinciden con los reportados en diferentes estudios con otras hierbas medicinales alrededor de mundo.

En 2006 Agusta, Ohashi y Shibuya mediante el uso de marcadores moleculares, determinaron la presencia de *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp., en *Camelia sinensis*.

En 2009 Jerke, Horianski y Salvatierra determinaron la presencia de *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp., en muestras de yerba mate elaborada en contenidos variables. También en 2009 Jerke, Salvatierra y Bargardi determinaron la presencia de cuatro especies de *Aspergillus* en te negro (*Camelia sinensis*).

En cuanto a los resultados obtenidos en este estudio, se observaron diferencias significativas en cuanto a la incidencia de los hongos presentes en las muestras estudiadas (Tabla 2). El hongo más frecuentemente aislado fue *Rhizopus* sp En

la República Argentina (Sánchez, González y Lurá 2006) se estudiaron plantas medicinales incluyendo malva, poleo, ruda, estigma de maíz, boldo, menta y manzanilla. Los mencionados autores identificaron hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Curvularia* y *Cladosporium* en incidencias variables. Los géneros citados coinciden con los obtenidos en la presente investigación.

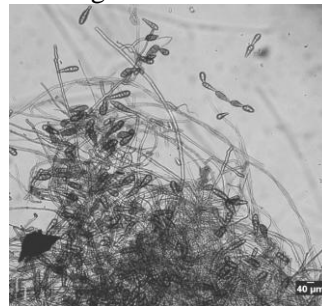


Fig. 1: *Alternaria* sp., aislada plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015

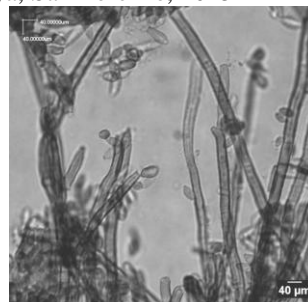


Fig. 2: *Cladosporium* sp., aislado plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015



Fig. 6: *Fusarium* sp., aislado plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015

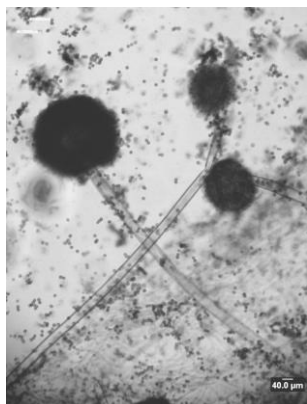


Fig. 7: *Aspergillus* Sección Nigri, aislado plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015

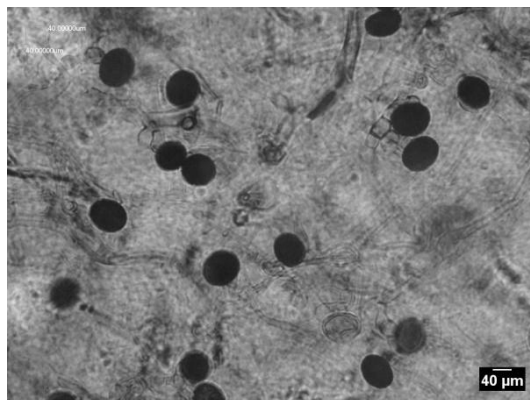


Fig. 8: *Nigrospora* sp., aislada plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015

Tabla 2. Incidencia de hongos filamentosos en plantas medicinales. San Lorenzo, Paraguay, 2015

Hongo	Media				
<i>Thielaviopsis</i> sp.	0,28	A			
<i>Nigrospora</i> sp.	0,56	A			
<i>Bipolaris</i> sp.	0,56	A			
<i>Trichoderma</i> sp.	0,83	A	B		
<i>Mucor</i> sp.	1,11	A	B		
<i>Penicillium</i> sp.	1,39	A	B		
<i>Coryneum</i> sp.	1,39	A	B		
<i>Fusarium</i> sp.	2,22	A	B		
<i>Alternaria</i> sp.	2,22	A	B		
<i>Phoma</i> sp.	2,22	A	B		
<i>Curvularia</i> sp.	3,61	A	B	C	
<i>Cladosporium</i> sp.	4,72		B	C	
<i>Aspergillus</i> Sección Nigri	7,50			C	D
<i>Aspergillus</i> Sección Flavi	10,83				D E
<i>Rhizopus</i> sp.	12,22				E

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes

En Paraguay no se dispone de reportes de hongos filamentosos en plantas medicinales, pero en yerba mate compuesta, han sido identificados *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp. y *Pullularia* sp. Como se ha mencionado anteriormente en trabajos similares realizados en la Región, en 2009, Jerke,

Horianski, y Salvatierra determinaron la presencia de *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., entre otros, en muestras de yerba mate elaborada. El mismo grupo de investigadores, también en 2009, detectó cuatro especies de *Aspergillus* en te negro (*Camelia sinensis*). En 2006, Sanchez et al., determinaron la presencia de 7 diferentes especies de *Aspergillus* en 7

especies medicinales adquiridas en farmacias en la República Argentina.

Cabe destacar que los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* han sido reportados como importantes hongos filamentosos potencialmente productores de micotoxinas (Soriano 2007).

Cuando se consumen plantas medicinales, los microorganismos patógenos pueden ingresar al organismo por vía digestiva, pero es importante destacar que las esporas de los hongos pueden hacerlo a través de las vías respiratorias y ocasionar alergias y enfermedades infecciosas, especialmente en personas inmunocomprometidas (Sánchez, González y Lurá 2006). Sobre todo en el caso de los hongos micotoxigénicos, su presencia debe alertar sobre la posibilidad de hallar micotoxinas en las plantas medicinales. Es importante determinar a futuro la capacidad micotoxigénica de los aislados.

Se han reportado como importantes hongos alérgenos a *Alternaria*, *Cladosporium* y *Aspergillus*, siendo además mencionados como agudizadores del asma (Sánchez, González y Lurá 2006; Piecková y Jesenská 1998).

En Paraguay actualmente no se cuenta con límites máximos para microorganismos contaminantes en plantas medicinales, por tanto es necesario el establecimiento de leyes estrictas que controlen la calidad de los productos comercializados.

CONCLUSIONES

La contaminación por hongos detectada podría implicar un riesgo para la salud humana, sobre todo en el caso de los hongos alérgenos y productores de metabolitos tóxicos, por tanto es

recomendable realizar estudios sobre determinaciones de cargas microbianas de hongos, especialmente los productores de toxinas y de toxinas presentes en estos productos.

Se ha evidenciado, gracias a los resultados obtenidos, que existen deficiencias en la calidad higiénico-sanitaria de las muestras analizadas y en el control de las autoridades responsables sobre estos productos. De esta manera queda establecida una base científica para investigaciones a futuro sobre el tema.

Se debe instar a las autoridades responsables de estos productos a establecer controles de calidad y sanitarios para asegurar la calidad e inocuidad de los productos.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Biotecnología Agrícola, INBIO, a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, FACEN, al Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas, CEMIT, por su apoyo para la realización de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agusta, A., K. Ohashi, y H. Shibuya. 2006. Composition of the Endophytic Filamentous Fungi Isolated from the Tea Plant *Camellia Sinensis*. *Journal of Natural Medicines* 60 (3): 268-72.
- Arrúa Alvarenga, A. A., C. Casal Martínez, D. Fernández Ríos, y J. Moura Mendes. 2013. *Aspergillus* y Micotoxinas. *Revista Médica* 2: 141-64.
- Arrúa Alvarenga, A. A., J. Moura Mendes, y D. Fernández Ríos. 2013. Aflatoxins, a Real Risk. *Reportes Científicos de la FACEN* 4 (1): 68-81.

Reyes, M. et al. Hongos filamentosos en plantas medicinales

- Arrúa Alvarenga, A. A., J. Moura Mendes, C. Martínez Cazal, C. Dujak Riquelme, D. Fernández Ríos, R. M. Oviedo de Cristaldo, y M. M. Kohli. 2014. Incidencia de hongos del complejo *Fusarium graminearum* y acumulación de Deoxinivalenol en líneas de trigo. *Investigación Agraria* 16 (1): 43-48.
- Barnett, H. L., y B. B. Hunter. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4.^a ed. St. Paul, MN: APS Press.
- Castegnaro, M., y C. Wild. 1995. IARC Activities in Mycotoxin Research. *Natural Toxins* 3 (4): 327-31.
- IARC. 1993. *Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins*. Vol. 56. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Jerke, G., M. A. Horiński, S. Bargardi, y M. L. Martínez. 2011. Análisis microbiológico en yerba mate compuesta. *Revista de Ciencia y Tecnología*, n.º 15 (junio): 4-10.
- Jerke, G., M. A. Horiński, y K. Salvatierra. 2009. Evaluación de géneros micotoxigénicos en yerba mate elaborada. *Revista de Ciencia y Tecnología*, n.º 12 (diciembre): 41-45.
- Jerke, G., K. Salvatierra, y S. Bargardi. 2009. Aislamiento de *Aspergillus* aflatoxigénicos en té negro durante las etapas de su elaboración tradicional. *Revista de Ciencia y Tecnología*, n.º 12 (diciembre): 58-64.
- Lee, S. D., I. S. Yu, K. Jung, y Y. S. Kim. 2014. Incidence and Level of Aflatoxins Contamination in Medicinal Plants in Korea. *Mycobiology* 42 (4): 339.
- Marasas, W. F. O., L. W. Burgess, R. Y. Anelich, S. C. Lamprecht, y D. J. Van Schalkwyk. 1988. Survey of *Fusarium* species associated with plant debris in South African soils. *S Afr J Bot* 54: 63-71.
- Pérez Paiva, J., L. Pirirs Morales, G. Ulke Mayans, L. Mendoza de Arbo, y S. Sánchez Bernal. 2013. Evaluación del Perfil Micológico de la Yerba Mate durante el proceso productivo y producto final en establecimientos yerbateros. Paraguay 2012. *Rev. Salud Pública Parag.* 3 (1): 8-13.
- Piecková, E., y Z. Jesenská. 1998. Microscopic Fungi in Dwellings and Their Health Implications in Humans. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM* 6 (1): 1-11.
- Pin, A., G. González, G. Marín, G. Céspedes, S. Cretton, P. Christen, y D. Roguet. 2009. Plantas medicinales del Jardín Botánico de Asunción. Asunción: Asociación Etnobotánica Paraguaya. 441p.
- Romagnoli, B., V. Menna, N. Gruppioni, y C. Bergamini. 2007. Aflatoxins in Spices, Aromatic Herbs, Herb-Teas and Medicinal Plants Marketed in Italy. *Food Control* 18 (6): 697-701.
- Sánchez, V., A. M. González, y M. C. Lurá. 2006. Análisis Microbiológico de Hierbas Medicinales y su Contaminación por Especies de *Aspergillus* Toxicogénicos. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 25 (1): 89-94.
- Soriano, C. J. 2007. Micotoxinas en alimentos. España: Díaz de Santos.

Morfo-anatomía foliar y caulinar de *Passiflora misera* Kunth (Passifloraceae)

Pereira Sühsner, C.¹

¹Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales. Dpto. Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Asunción
E mail del autor: claudinha_7@hotmail.com

Morfo-anatomía foliar y caulinar de *Passiflora misera* Kunth (Passifloraceae). Se estudió la morfoanatomía foliar y caulinar de *P. misera* con el objeto de identificar caracteres que permitan reconocer a la especie, además de obtener valores cuali-cuantitativos que la identifiquen en muestras fragmentadas. El material vegetal fue colectado en el Distrito Félix Pérez Cardozo, Dpto. Guairá. Se realizaron observaciones directas y al microscopio estereoscópico de las partes vegetativas y reproductivas para la caracterización morfológica. Los cortes transversales foliares y caulinares se realizaron con micrótopo rotatorio manual y se aplicó tinción directa con safranina (1%), posteriormente se montaron en Bálsamo de Canadá. La especie se caracteriza morfológicamente por ser una liana ligeramente pilosa, tallo pentangular y ligeramente estriado, hojas ligeramente trilobadas y trinervadas con glándulas oclares en pares en la cara abaxial, pecíolo sin glándulas nectaríferas; flores generalmente solitarias y axilares. Los caracteres anatómicos que la distinguen están dados por las células epidérmicas de la cara adaxial y abaxial de contorno ondulado, estomas del tipo anomocíticos y parasíticos sólo en la cara abaxial, mesófilo dorsiventral, drusas en el parénquima en empalizada y asociadas al haz vascular de la vena media y del pecíolo. Los valores del índice de empalizada y de estomas constituyen un instrumento de apoyo al estudio de caracteres cualitativos. En el tallo el parénquima cortical y medular con abundantes drusas, el córtex compuesto por tres a cuatro estratos de colénquima periférico, casquetes de fibras esclerenquimáticas y parénquima.

Palabras clave: hoja, morfo-anatomía, *Passiflora*, tallo

Leaf and stem morpho-anatomy of *Passiflora misera* Kunth (Passifloraceae). In this work we studied the leaf and stem morphoanatomy of *P. misera* in order to identify characters that distinguish the species, in addition to obtaining qualitative and quantitative values that can be used for recognition of fragmented samples. The plant material was collected at the Felix Perez Cardozo District, Guairá Department. Observations direct and stereoscopic microscope the vegetative and reproductive parts for morphological characterization were made. The leaf and stem cross sections were made with manual rotary microtome and direct staining with safranin (1%) was applied subsequently mounted in Canada Balsam. The species is morphologically characterized by a slightly hairy liana, angular and slightly fluted stem, slightly lobed leaves and trinervadas ocellar glands in pairs to the abaxial side, petiole with nectar glands absent; flowers usually solitary and axillary. The anatomical characteristics found were: adaxial and abaxial epidermis with wavy edge, anomocytic stomata and parasitic type in the abaxial face, bifacial mesophyll with dorsiventral symmetry, in the presence of drusen-associated parenchyma and vascular bundle of the midrib and petiole, absence of drusen in the mesophyll. The stem is pentangular, cortical and medullary parenchyma with numerous drusen, composed for three to four layers of collenchyma, caps sclerenchymatous bark fibers and parenchyma. The index values of stomatal fence and are an instrument to support the study of qualitative character.

Keywords: morphoanatomy, *Passiflora*, leaf, stem

Steviana, Vol. 7, 2015, pp. 96 – 101.

Original recibido el 13 de octubre de 2015.

Aceptado el 30 de noviembre de 2015.

INTRODUCCIÓN

Una planta medicinal es cualquier parte de un vegetal utilizado con fines terapéuticos o que posea actividad farmacológica (OMS, 1978), por tal motivo deberán reunir calidad, seguridad y eficacia (Sandoya, 1994; Rams Pla, 2003; Mantovani, 2007).

La garantía de autenticidad con énfasis en la identidad botánica del producto vegetal está dada por la calidad. Mientras que la seguridad de su eficacia depende del principio activo de la planta, y éste puede variar dependiendo de la época de colecta, los factores ambientales e incluso la forma de preservación del material, por lo tanto una planta puede ser tóxica, presentar efectos adversos o interactuar con fármacos de síntesis, sin mencionar el riesgo indirecto en el uso de plantas medicinales sin eficacia demostrada (Rams, 2003; Mantovani, 2007).

Passiflora misera Kunth, pertenece a la familia Passifloraceae y se conoce popularmente como “Mburucuja’i”. La parte aérea es empleada en la medicina popular en infusiones como relajante y cardiotónico. En Paraguay se distribuye en los Departamentos de Alto Paraguay, Amambay, Caaguazú, Central, Concepción, Cordillera, Guairá, Itapúa, Misiones, Ñeembucú, Paraguarí, Presidente Hayes (Zuloaga *et. al.*, 2009).

En el presente trabajo se estudió la morfoanatomía foliar y caular de *P. misera* con el objeto de contribuir con la caracterización morfoanatómica de esta especie poco estudiada e identificar caracteres que permitan distinguir a la misma, además de obtener valores cuali-cuantitativos que puedan ser utilizadas

para el reconocimiento de las muestras fragmentadas.

METODOLOGÍA

Diseño metodológico

Observacional, y descriptivo de cortes transversales.

Colecta del material

El ejemplar se coleccionó en el Distrito Félix Pérez Cardozo. El material colectado fue depositado en el Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad Nacional de Asunción (FaCEN - UNA).

Identificación taxonómica

La especie fue identificada a través de claves dicotómicas, se utilizó la clasificación taxonómica del género *Passiflora* L. propuesta por Killip (1938) y revisiones posteriores.

Caracterización morfológica

Se realizaron observaciones directas y al microscopio estereoscópico de las partes vegetativas y reproductivas para la caracterización morfológica.

Caracterización anatómica

Los cortes transversales foliares y caulares se realizaron con micrótopo rotatorio manual y se aplicó tinción directa con safranina (1%), posteriormente se montaron en Bálsamo de Canadá (D’Ambrogio, 1986). Se tomaron muestras de partes foliares, se procedió a diafanizar y eliminar la cutina, para la observación de la epidermis foliar, aplicando la técnica de Carpano *et. al.* (1994). Esta técnica permitió visualizar las células y obtener valores numéricos correspondientes a los

índices de empalizada y estomático (Spegazzini, 2007). Los preparados microscópicos están depositados en el Laboratorio de Recursos Vegetales (LAREV) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción.

Índice de empalizada

Para la determinación del Índice de empalizada se observó la epidermis adaxial delimitando cuatro células epidérmicas adyacentes, y se enfocó el parénquima en empalizada. Se realizó el recuento de las células en empalizadas en el área delimitada, posteriormente se aplicó la siguiente fórmula:

$$IE = \frac{N^{\circ} \text{ de células en empalizada}}{4}$$

Índice de estomas

Para la determinación del Índice de estomas, se enfocó la epidermis abaxial y se procedió al conteo, el cálculo se realizó utilizando la siguiente fórmula:

$$IS = \frac{N^{\circ} \text{ de estomas}}{N^{\circ} \text{ estomas} + N^{\circ} \text{ cel. epidérmicas}} \times 100$$

Fotografías

Las microfotografías fueron tomadas con cámara digital MOTICAM 352 incorporada al microscopio óptico, editadas con el software Motic Images Plus 2.0 (Motic China Group, 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La especie estudiada corresponde a *Passiflora misera*.

Caracteres morfológicos

La especie se caracteriza morfológicamente por ser una liana ligeramente pilosa, tallo pentaangular y ligeramente estriado, hojas ligeramente trilobadas y trinervadas con glándulas oclares en pares en la cara abaxial, pecíolo con glándulas nectaríferas ausentes; flores generalmente solitarias y axilares.

Caracteres de la anatomía foliar

Epidermis uniestratificada, con paredes anticlinales de contorno ondulado, presencia de estomas del tipo anomocítico y parasítico en la cara abaxial, caracterizando a la hoja como hipostomática. Las hojas hipostomáticas son un carácter común para el género, y fueron mencionadas en *P. actina* Hooker (Kurtz *et. al.*, 2003), *P. palmeri* Rose (Miranda *et. al.*, 2007), *P. guazumaefolia* Juss. (García *et. al.*, 2008), *P. alata* Curtis y *P. edulis* Sims (Pereira Sühsner *et. al.*, 2009).

En sección transversal, por debajo de la epidermis se observa de dos a tres capas de colénquima del tipo angular. El haz vascular del tipo colateral, coincidiendo con *P. actinia* Hook. (Kurtz *et. al.*, 2003), *P. palmeri* Rose (Miranda *et. al.*, 2007), *P. alata* Curtis y *P. edulis* Sims (Pereira Sühsner *et. al.*, 2009). Se observa presencia de drusas asociadas al haz vascular y al colénquima. La vena media es más prominente en el envés.

El mesófilo es dorsiventral. El parénquima en empalizada está constituido por una a dos capas de células más o menos rectangulares, con presencia de drusas. El esponjoso compuesto de 5 a 6 capas de células más o menos irregulares. Los.

Pereira Sühsner, C. Morfo-anatomía foliar y caulinar de Passiflora misera

hacillos vasculares están rodeados por una vaina parenquimática.

Otros autores han observado drusas en *P. palmeri* Rose (Miranda *et. al.*, 2007), *P. guazumaefolia* Juss. (García *et. al.*, 2008), *P. alata* Curtis y *P. edulis* Sims (Pereira

Sühsner *et. al.*, 2009), sin embargo en *P. misera* se localizan en el parénquima en empalizada del mesófilo, están asociadas al haz vascular y el colénquima está presente en la vena media.

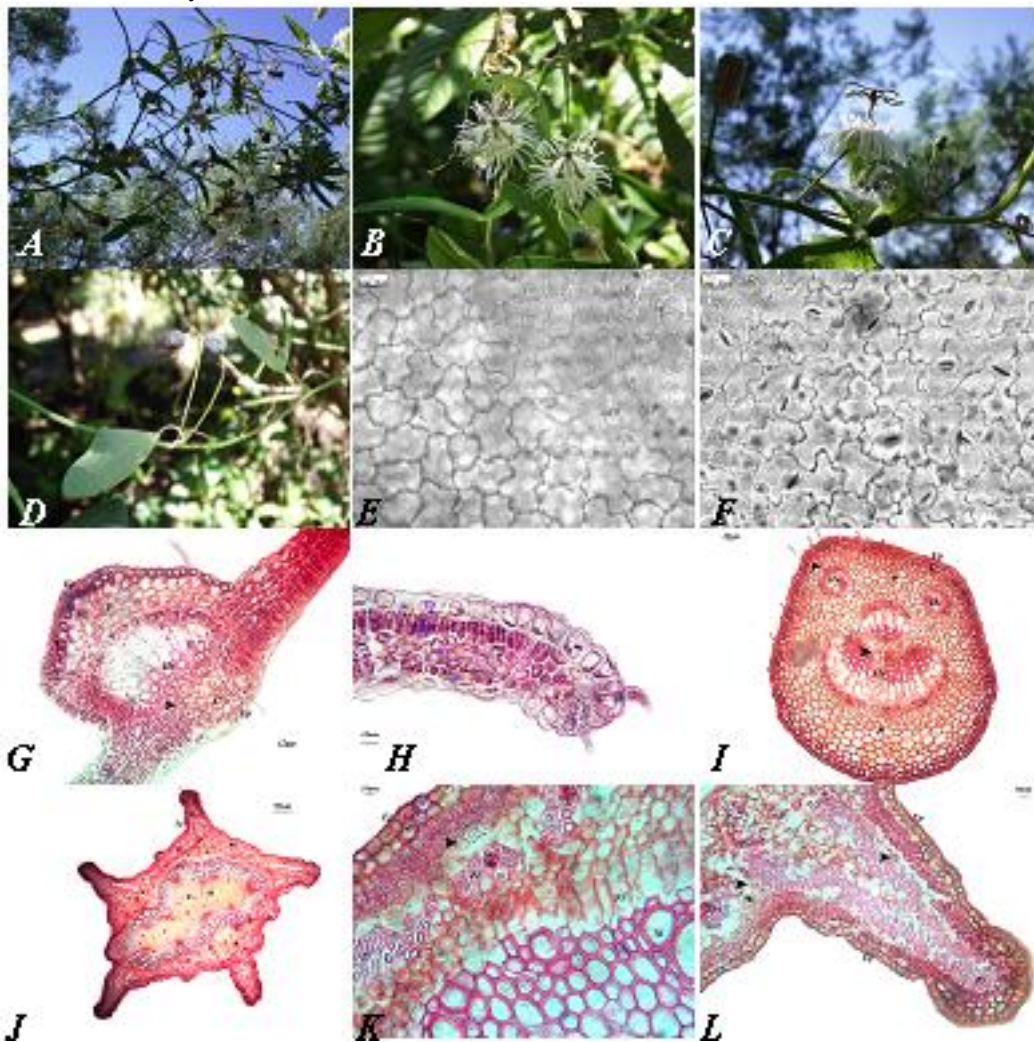


Fig. 1: *Passiflora misera* Kunth, **A:** Habito, **B - C.** Flores, **D.** Frutos, **E.** Epidermis adaxial, **F.** Epidermis abaxial, **G.** Corte transversal de hoja, detalle de la nervadura principal, **H.** Corte transversal de hoja, detalle del mesófilo, **I.** Corte transversal del peciolo, **J - L.** Corte transversal del tallo. **Referencias:** Ep, epidermis; Pem, parenquima en empalizada; Pes, parenquima esponjoso; P, parenquima; Hv, Haz vascular, Xi, xilema; Fl, floema; Fi, fibras; C, colenquima; la flecha indica cristales de oxalato de calcio tipo drusas

En el pecíolo la epidermis es uniestratificada, subyacente a ella se disponen varias capas de colénquima angular, y se observan drusas asociadas al haz vascular. Entre las células epidérmicas especializadas se observan pelos eglandulares uniseriados, pluricelulares, cortos y pelos eglandulares uniseriados, unicelulares, con base pluricelular.

Caracteres de la anatomía caulinar en sección transversal

Tallo pentagonal, con cinco costillas redondeadas. La epidermis es uniestratificada. El córtex está constituido por dos a tres capas de colénquima además el tejido parenquimático con casquetes de fibras esclerenquimáticas. Presencia de abundantes drusas en el córtex y en la médula. Médula parenquimática maciza.

CONCLUSIONES

Los caracteres morfoanatómicos foliares y caulinares de *Passiflora misera* podrían ser útiles para la identificación de muestras comerciales y permiten la diferenciación con otras especies de *Passiflora* comercializadas bajo la misma denominación vernácula. Estos resultados contribuyen a la caracterización de la especie. El contorno de las células epidérmicas, el tipo de estomas, la presencia de drusas y su localización resultaron caracteres de importantes de valor diagnóstico.

BIBLIOGRAFÍA

Carpano, S.M., Spegazzini, E.D. y Nájera, M.T. 1994. Nueva técnica de eliminación de cutina de órganos foliares. *Rojasiana*, 2(1), 9-12.

D'Ambrogio, A. 1986. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Buenos Aires, Editorial Hemisferio Sur. 84p.

García, M., Jáuregui, D y Pérez, D. 2008. Anatomía Foliar de *Passiflora guazumaefolia* Juss. y *Passiflora aff. tiliaefolia* L. (passifloraceae) Presentes en Venezuela. *ERNSTIA*, 18 (2), 165-176.

Killip, E.P. 1938. The American species of Passifloraceae. *Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. ser.* 19: 1 - 613.

Kurtz, S. et al. 2003. Morfo-anatomía de folhas de maracujá: *Passiflora actinia* Hooker (Passifloraceae). *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 22 (2), 105-120.

Miranda, R. 2007. Anatomía foliar de *Passiflora palmeri* Rose (Passifloraceae). IN: XIII Seminário de Iniciação Científica e 9ª Semana de Pesquisa e Pós-Graduação da UESC Ciências Biológicas.

Mantovani, L. 2007. Curarse con las plantas "Como recuperar la salud con las hierbas medicinales". 20 Ed. Bogotá Colombia: Panamericana Editorial. 96pp.

Motic China Group. 2006. Motic Images Plus versión 2.0. Software de computadora para microscopia digital.

OMS. Plantas Medicinales - Normas para promover la seguridad del paciente y la conservación de plantas para una industria de us\$60 mil millones. Septiembre 2010. <http://www.who.int>

Rams Pla, N. 2003. El uso de plantas medicinales. *Butlleti d' Informacio terapeutica* 15(8), 31-34.

Sandoya, J. N. 1994. La Cura Natural. Asunción: Editorial Promaster.

Pereira Sühsner, C. Morfo-anatomía foliar y caular de Passiflora misera

Spegazzini, E. D. 2007. La micrografía en la identidad de los vegetales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 6 (5), 162.

ZULOAGA, F.O.; MORRONE, O.; BELGRANO, M.J. 2009. Catálogo de Las Plantas Vasculares Del Cono Sur: Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay (En línea). Buenos Aires, AR. Consultado 10 oct 2012. Disponible en <http://www2.darwin.edu.ar/Proyectos/FlorArgentina/FA.asp>.

Evaluación ecotoxicológica de arroyos de la reserva San Rafael y su zona de amortiguamiento mediante bioensayos con *Daphnia magna* y *Lactuca sativa*

López Arias, T. R.¹; Esquivel Mattos, A.²; Peris, S.³

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

²Wildlife Paraguay-Calle Benito Juárez N° 1160, Luque, Paraguay

³Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Salamanca, 37071 Salamanca, España

E mail del autor para correspondencia: tlopez@facen.una.py

Evaluación ecotoxicológica de arroyos de la Reserva San Rafael y su Zona de amortiguamiento mediante bioensayos con *Daphnia magna* y *Lactuca sativa*. Se evaluaron los efectos ecotoxicológicos de la actividad agrícola en arroyos de la Reserva San Rafael y zona de amortiguamiento, mediante bioensayos, determinación de plaguicidas y parámetros fisicoquímicos. Se realizaron siete campañas entre los años 2012 y 2013, tomando muestras de agua y sedimentos en 5 arroyos, de los cuales dos son nacientes en zonas de bosque nativo y 3 en agroecosistemas de la zona de amortiguamiento. Se realizaron tests de toxicidad aguda y crónica con *Daphnia magna*, además ensayos de toxicidad aguda con *Lactuca sativa*. No se registró toxicidad aguda en *D. magna* ni en *L. sativa*, pero se observaron efectos tóxicos crónicos leves sobre su tasa de reproducción. Los análisis de plaguicidas, cipermetrina y clorpirifós arrojaron resultados negativos. Parámetros fisicoquímicos indican que las aguas se encuentran en buenas condiciones, categorizadas dentro de Clase I según estándares de la SEAM. Sin embargo, se detectan incrementos principalmente en los niveles de Nitratos y Fósforo total, al comparar los controles con aguas de agroecosistemas.

Palabras clave: bioensayos toxicidad, plaguicidas

Ecotoxicological assessment of streams in the San Rafael Reserve and its buffer zone through bioassays with *Daphnia magna* and *Lactuca sativa*. The ecotoxicological effects of agricultural activity on streams of the San Rafael Reserve and its buffer zone were assessed through bioassays, determination of pesticides and physicochemical parameters. Seven sampling campaigns were carried out between the years 2012 and 2013, taking water and sediment samples from five streams, two of which are water springs in a primary forest zone; the remaining three samples were taken from agroecosystems located within the buffer zone. Acute and chronic toxicity tests were carried out with *Daphnia magna*, in addition to acute toxicity assays with *Lactuca sativa*. No acute toxicity was recorded in *D. magna* or *L. sativa*, but slight chronic toxic effects were observed on their rates of reproduction. The pesticide screening for chlorpyrifos and cypermethrin determined that neither was present in the samples. Physicochemical parameters indicate that the waters are in good condition, classified as Class I according to the standards of the Secretariat of the Environment (SEAM by its Spanish acronym). However, increases were detected mainly in the levels of nitrates and total phosphorus when comparing the controls to waters from agroecosystems.

Keywords: toxicity, bioassays, pesticide

Steviana, Vol. 7, 2015, pp. 102 – 115.

Original recibido el 22 de junio de 2015.

Aceptado el 12 de octubre de 2015.

INTRODUCCIÓN

La agricultura se ha convertido en la base para el desarrollo económico del Paraguay, aportando el 16% del PIB (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2010), y según los pronósticos a mediano y largo plazo seguirá el incremento de las tierras cultivadas, debido a la demanda mundial de alimentos. Este modelo de desarrollo, trae consigo el uso de extensas superficies de terreno, incluyendo bosques, pastizales, humedales, entre otros ecosistemas terrestres. Además la agricultura actual conlleva el uso de grandes cantidades de plaguicidas; estimaciones indican que en el año 2010 en el Paraguay se importaron 114.376 T., a esto se suma la débil gestión de plaguicidas, muchas de las cuales presentan características ecotoxicológicas, que pueden tener efectos adversos sobre medio ambiente.

El Departamento de Itapúa, está ubicado en la zona sur-este de la Región Oriental del Paraguay. Limita al norte con los Departamentos de Caazapá y Alto Paraná, al este y al sur con la República Argentina y al oeste con el Departamento de Misiones. Posee un clima tropical a moderado. El Departamento presenta seis ordenes de suelos, estos son los Ultisoles (72,52%), los Entisoles (16,66%), los oxisoles (6,26%), Alfisoles (3,75%), Inceptisoles (1,60%), y tierras misceláneas (0,21%). Actualmente el 56,65 % del Departamento Itapúa (936.067 has), se destina al cultivo agrícola mecanizado; esta ha tenido un modelo de desarrollo agrícola de corto plazo, sin una planificación con consecuencias negativas en los que concierne a sus recursos naturales. El remanente boscoso se

encuentra hacia el norte del departamento, principalmente en la zona correspondiente a la Reserva San Rafael, estimaciones indican que el área boscosa abarca 149.860 has., correspondiente al 9,07 % de la superficie total (Rojas Ozuna *et al.* 2014) Los cultivos de soja, trigo, maíz, girasol, y otros rubros agrícolas son los más utilizados en los sistemas de siembra directa y en forma rotativa realizados en la zona de Itapúa (MAG, 2010); zona en la que se ubica el área de estudio del presente trabajo. Se seleccionan los plaguicidas cipermetrina, clorpirifos y glifosato por ser los más utilizados en los cultivos (Peruzzo *et al.* 2008).

El escenario de uso extensivo de los agroquímicos hace necesario conocer los riesgos que implican el uso de los mismos sobre organismos no blanco, así como determinar el destino ambiental de estos compuestos en aguas y suelos. Actualmente este tipo de evaluación se enmarca dentro de lo ciencia denominada Ecotoxicología. En el Paraguay, no se disponen de datos de evaluación del impacto de agroquímicos sobre la biodiversidad, siendo desconocido los posibles impactos en los ecosistemas.

Para la determinación de los niveles de toxicidad aguda y crónica de las aguas actualmente se disponen de una serie de pruebas con diversos organismos modelos. Estos ensayos están concebidos para determinar los efectos inmediatos y tardíos de la exposición química sobre una serie de criterios de valoración, como la supervivencia, la reproducción, y las respuestas bioquímicas y fisiológicas (Castillo Morales *et al.* 2004)

Los ensayos de toxicidad con *Daphnia magna* permiten determinar la letalidad potencial de sustancias químicas puras

(Guilhermino *et al.* 2000), aguas residuales domésticas e industriales (Baral *et al.* 2006), lixiviados, aguas superficiales o subterráneas, agua potable y agua de poro de sedimentos, entre otros. (Wernersson & Dave, 1997; Rodríguez, *et al.* 2006).

Para estimar los efectos sobre la comunidad vegetal, se disponen de organismos modelos como *Lactuca sativa*, *Allium cepa*, *Lemna sp.* entre otros. *L. sativa* se utiliza para realizar bioensayos de toxicidad aguda, lo que permite evaluar los posibles efectos fitotóxicos de las aguas, sedimentos e inclusive de sustancias puras y mezclas, en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas. Se establece como punto final para la evaluación de los posibles efectos tóxicos, la inhibición de la prolongación del crecimiento de la radícula (Castillo Morales *et al.* 2004; Dutka *et al.* 1991)

En el presente trabajo se evalúan los efectos ecotoxicológicos de la actividad agrícola en arroyos de la Reserva para Parque Nacional San Rafael, y zonas de amortiguamiento, mediante parámetros químicos determinantes de calidad de los sistemas acuáticos y ensayos de toxicidad aguda y toxicidad crónica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de agua y de los sedimentos, fueron colectadas en cinco puntos de la reserva, en el área a cargo de la Fundación Pro Cosara, y zonas periféricas a la misma (Fig. 1). La ubicación geográfica de los cinco puntos de muestreo se resume como sigue:

- Punto 1 (P1): 26°36'59.30"S, 55°39'58.70"O Arroyo de sendero

Chachi. Ubicada en la reserva, en zona boscosa.

- Punto 2 (P2): 26°37'11.10"S, 55°35'12.60"O; Arroyo Pirapó. Zona de cultivos agrícolas.
- Punto 3 (P3): 26°34'47.10"S, 55°37'2.70"O; Arroyo Taguató. Zona de cultivos agrícolas.
- Punto 4 (P4): 26°38'3.50"S, 55°39'44.60"O; Laguna artificial en Pro Cosara.
- Punto 5 (P5): 26°39'56.10"S, 55°43'08.26"O; Arroyo Perlita. Zona de cultivos agrícolas.

Recogida, traslado y procesamiento de muestras

Las muestras de agua fueron colectadas y mantenidas hasta su estudio según criterios establecidos en APHA (1998). Para los ensayos toxicológicos y para la determinación de los parámetros fisicoquímicos las aguas fueron almacenadas en envases de polipropileno de 5 L de capacidad, a excepción de las utilizadas para la determinación de fosforo total y las destinadas para la determinación de plaguicidas, para las que se utilizaron frascos de vidrio color ámbar de 200 ml, y 1 L de capacidad respectivamente. Los sedimentos se recogieron en bolsas plásticas de 1L. En todos los casos, inmediatamente a la toma de las muestras, estas fueron depositadas en conservadoras a 4° C.

Previo a cada bioensayo se realizaron extracciones acuosas de los sedimentos. Se prepararon elutriados de los sedimentos de cada punto, manteniendo una proporción 1:4 de sedimento y agua dura reconstituida (Ramírez Romero & Mendoza Cantú 1998).

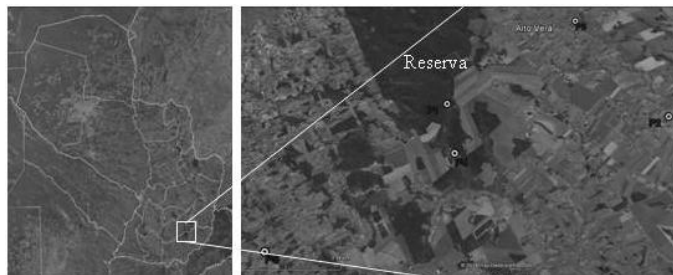


Fig. 1: Área de estudio, y sitios de colecta

Prueba de sensibilidad de *D. magna* y *L. sativa* frente a los plaguicidas cipermetrina, clorpirifos y glifosato.

En las pruebas de toxicidad con *D. magna*, se utilizan neonatos menores de 24 h de edad, que son expuestos a los tratamientos, por un periodo de 48 h (OECD 1998). Los test agudo en *D. magna* fueron ensayados dentro de los siguientes rangos de concentraciones medidas: 0,0001- 0,1 mg.L⁻¹ para el clorpirifos, 0,0005 - 0,02 mg.L⁻¹ para la cipermetrina, y entre 1-100 mg.L⁻¹ para el glifosato formulado. Este último también fue evaluado con *L. sativa* entre 0,01-100 mg.L⁻¹. Las concentraciones de los plaguicidas no fueron verificadas analíticamente.

Para *D. magna*, se siguieron los delineamientos propuestos por la OECD (2004). Los ensayos se realizaron aplicando el diseño DBCA n×3. Como medio de dilución de los plaguicidas se utilizó agua dura reconstituida (para la cipermetrina y el glifosato), y agua dura más metanol (para el clorpirifos); se trabajaron con diferentes concentraciones y dos controles, cada una con 3 réplicas de 10 neonatos del cladóceros. Los estudios se extendieron por 24 horas, y al final se registraron los individuos muertos para cada tratamiento. Se estimó la dosis letal 50 (DL50) mediante el método Probit

utilizando el Software SPSS 15.0. Solo se aceptaron los resultados si la supervivencia en el control negativo era superior al 90 %, y si la DL50 con el dicromato se encuentra entre 2.5 a 0.3 mg. L⁻¹

Para la prueba de toxicidad aguda por inhibición del crecimiento radicular en *Lactuca sativa*, frente al glifosato de formulación comercial, las semillas fueron expuestas a 5 concentraciones diferentes del plaguicida y dos controles, todo por duplicado. Se utilizaron cápsulas de Petri de plástico descartables, con papel filtro Qualy, de 14 micras de poro y 12.5 cm de diámetro. Se colocaron 20 semillas por placa. Cada preparado fue embebido con 4 ml de del tratamiento, envueltas en bolsas plásticas, y colocadas en cajas cerradas para evitar el contacto con la luz (Castillo Morales *et al.* 2004). Posteriormente se incubaron los preparados en una estufa LAB-LINE, modelo AMBI-HI-LO, a 20 ± 2 °C, por un periodo de 120 horas. Al transcurrir el tiempo se procedió a la medición de la variable respuesta, que consistió en el porcentaje de inhibición del crecimiento radicular de los plantines, para posteriormente estimar la DL50 por el método Probit (Dutka, *et al.* 1989)

Parámetros químicos

La determinaciones de los parámetros fisicoquímicos se realizaron en el

Laboratorio de Calidad de Agua, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, aplicando Los criterios mencionados en el *Stándar Methods for the examination of wáter and wast-wasters* (APHA,1998); se midieron la DBO₅ (SM, 5210 B), dureza total (SM, 2340 C), nitrato (reducción con cinc), fósforo total (SM, 4500-P E), sulfato (turbidimétrico), pH (SM, 4500-H B) y Oxígeno disuelto (electrométrico- SM, 4500-O G).

Para la determinación de los biocidas Cipermetrina y Clorpirifos, se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) de la marca Shimadzu, con detector UV, visible modelo SPD-M20/M10AVI. El equipo cuenta con una bomba isocrática para fase móvil (LC-20AT), un horno para columnas (CTO-20A), un detector UV/Visible (SPD-20A) y un inyector automático (SIL-20A). El sistema es controlado a través del software LC solution versión 2.2.

Bioensayos de toxicidad con aguas y sedimentos

Para *D. magna* se realizaron dos tipos de ensayos, agudo y crónico. El test agudo se realizó aplicando el diseño DBCA 7×3 (OECD 2004), con dos controles y cinco concentraciones de las muestras de agua y elutriados de sedimento de cada punto: 100 %, 50 %, 25 %, 12.5 % y 6,25 % (tratamientos), las diluciones fueron preparadas con agua dura reconstituida (APHA, 1998). Se utilizaron los mismos criterios de aceptación seguidos en los ensayos agudos con los plaguicidas.

Para los ensayos crónicos se empleó un diseño semi-estático las pruebas se realizaron acorde a la guía propuesta por la OECD (1998). Se utilizaron 10 neonatos menores a 24 horas de nacidas (uno por

recipiente) para el control y para cada muestra de agua. A cada recipiente se le adicionó 100 mL de la muestra en cada caso. Se evaluaron los efectos sobre la supervivencia y reproducción por 21 días. Durante el periodo de estudio, los individuos fueron alimentados con *Chlorella sp.* cada dos días y el recambio de agua se realizó dos veces por semana. Se contabilizaban y retiraban los neonatos cada 3 días, durante el tiempo de duración del test. El criterio de validación de los resultados fue en lo referente a las condiciones biológica: la supervivencia ($\geq 80\%$) y número promedio de neonatos ≥ 60 en los controles negativos, no producción de epifias; y respecto a las variables ambientales, variación del pH en una unidad y concentración de OD $>60\%$ (Liu *et al.* 2012; OECD 1998). Los resultados biológicos fueron expresados como promedios \pm S.D, y se analizaron estadísticamente usando el análisis de varianza (ANOVA de una vía), seguido de la comparación múltiple de Dunnett.

La fitotoxicidad de las aguas fue determinada mediante ensayos con *Lactuca sativa* Se trabajó con un control negativo, y cuatro concentraciones diferentes por cada muestra, y un factor de dilución de 0,5; a partir de la muestra se prepararon soluciones al 50 %, 25 % y 12.5 % (% v/v). Posteriormente se siguieron los procedimientos propuestos por Dutka, *et al.*, (1989) y Castillo (2004).

RESULTADOS Y DISUSIÓN

Toxicidad aguda del clorpirifos, cipermetrina y glifosato.

Los bioensayos arrojaron resultados que están dentro del rango mencionado en otros estudios. Para *D. magna* la toxicidad

aguda con el clorpirifos fue de 2,18 mg.l⁻¹, 3,18 mg.l⁻¹ para la cipermetrina, y 39,05mg.l⁻¹ para el glifosato (Tabla 1). Guilhermino *et al.*, (2000), testaron el clorpirifos para *D. magna*, y reportan valores de CL₅₀-24h de 0,344 mg.l⁻¹, en otro estudio se menciona un valor de CL₅₀ de 0,0001 mg.l⁻¹ 48 horas, respectivamente (PPDB 2014a). Así mismo, Demetrio (2012), informa valores de CL₅₀-48h de 0,30 g.l⁻¹ para un formulado comercial, y 1,22 g.l⁻¹ para el ingrediente activo del clorpirifos.

Demetrio (2012), reporta valores de toxicidad de un formulado comercial de cipermetrina igual a 2,81 g.l⁻¹, y de 3,73 g.l⁻¹ para el ingrediente activo tras 48 h de

exposición. Se informan valores de 0,0003 mg.l⁻¹ (PPDB 2014b), y 2 g.l⁻¹ (WHO 1989).

La toxicidad aguda del glifosato F frente a *D. magna* obtenida en este estudio, arrojó un valor de CL₅₀ superior a los obtenidos en otros trabajos. Demetrio (2012), informa valores de CL₅₀-48 h de 9,34 para el glifosato F, y de 199,61 mg.l⁻¹ para su ingrediente activo; en el mismo estudio se indica que la CE₅₀-48 h para el surfactante POEA es de 1,80 mg.l⁻¹. Otros estudios reportan valores de CL₅₀-48h comprendidos entre 5,3 y 37 mg.l⁻¹ (WHO 1994) para formulados comerciales, y de 700 mg.l⁻¹ para el ingrediente en grado técnico.

Tabla 1. CL_x e intervalos de confianza al 95 % para *D. magna* y *L. sativa* para los plaguicidas clorpirifos, cipermetrina y glifosato obtenidos. Se informan los valores de x² y tabulados (α=0,05)

CL _x	Clorpirifos (µg.l ⁻¹) 1)	Cipermetrina (µg.l ⁻¹) en <i>D. magna</i>	Glifosato F (mg.l ⁻¹) en <i>D. magna</i>	Glifosato F (mg.l ⁻¹) en <i>L. sativa</i>
	en <i>D. magna</i>			
1	0,31 (0,04- 0,70)	0,43 (0,09-0,86)	7,03 (1,48-12,75)	0,02
5	0,55 (0,10- 1,04)	0,77 (0,24-1,35)	11,61 (3,77-18,42)	0,20
10	0,75 (0,18- 1,28)	1,05 (0,39-1,73)	15,18 (6,14-22,66)	0,66
25	1,24 (0,47- 1,87)	1,78 (0,89-2,67)	23,75 (13,31-33,34)	4,91
50	2,18 (1,27- 3,01)	3,18 (2,02-4,75)	39,05 (27,20-59,27)	45,96
75	3,83 (2,76- 5,97)	5,70 (3,87-9,96)	64,21 (44,96-130,24)	429,96
90	6,35 (4,43- 13,89)	9,62 (6,19-21,78)	100,46 (64,54-289,67)	3.216,59
99	15,15 (8,51- 69,73)	23,67 (12,60-92,51)	217,04 (113,34- 1216,27)	102.694,93
X ² cal	2,83	0,619	0,796	0,599
X ² _{0,05stab}	9,49	9,49	9,49	7,015

En un estudio de la toxicidad aguda del ingrediente activo glifosato como sal de isopropilamina, y del formulado Roundup (Cuhra *et al.* 2013) realizado con diferentes clones y edades de *D. magna*, se reportan valores de CE₅₀-48 h entre 1,4 y 7,2 mg.l⁻¹ para el ingrediente activo,

valores entre 3,7-10,6 mg.l⁻¹ para el Roundup, esto con individuos juveniles. En el trabajo también se discute la inconsistencia y diferencias extremas en relación a los resultados de toxicidad del glifosato; algunos investigadores como Forbis y Boudreau (1981) mencionado por

Cuhra *et al.* (2013) reportan una CE_{50} -48 h de 930 mg/l en *D. magna*, en otras bases de datos igualmente se reportan altos valores (WHO, 1994b; EPA, 1994), y concluyen que las diferencias se deben al tipo de compuesto utilizado, antes que a la variabilidad clonal de los individuos (Cuhra *et al.* 2013)

Al graficar la relación entre el Probit calculado con el \log_{10} de la concentración de cada compuesto (Fig. 2), se aprecia que existe una relación lineal, entre ambas variables. De esta forma la toxicidad de los plaguicida de mayor a menor queda como sigue: clorpirifos > cipermetrina > glifosato.

En lo que respecta a *L. sativa*, el glifosato F, presentó una CE_{50} -120 h de 45,95 $mg.l^{-1}$ con *L. sativa* (Tabla 1). Otros

estudios, con una formulación del herbicida glifosato (formulación líquida soluble de sal amónica de la N-fosfonometil glicina al 40,5% eq. ac. glifosato 36,9 % p/v) mediante bioensayo de germinación con semillas de lechuga y de trigo, reportan valores de 0,01650 $L.ha^{-1}$ para *L. sativa* y de 0,02325 $L.ha^{-1}$ para *Triticum aestivum* L. (Lallana *et al.* 2015); demostrando que ambas plantas son sensibles al compuesto. Martin & Ronco (2006), estudiaron los efectos de mezclas de pesticidas en *L. sativa*, *Brasica napus*, *Allium cepa*, *Medicago sativa* y *Lolium perenne*; obteniendo valores de CI_{50} de 9,89 $mg.l^{-1}$ para *L. sativa*, siendo la más sensible, y 1.164 $mg.l^{-1}$ para *M. sativa*, que es la menos sensible.

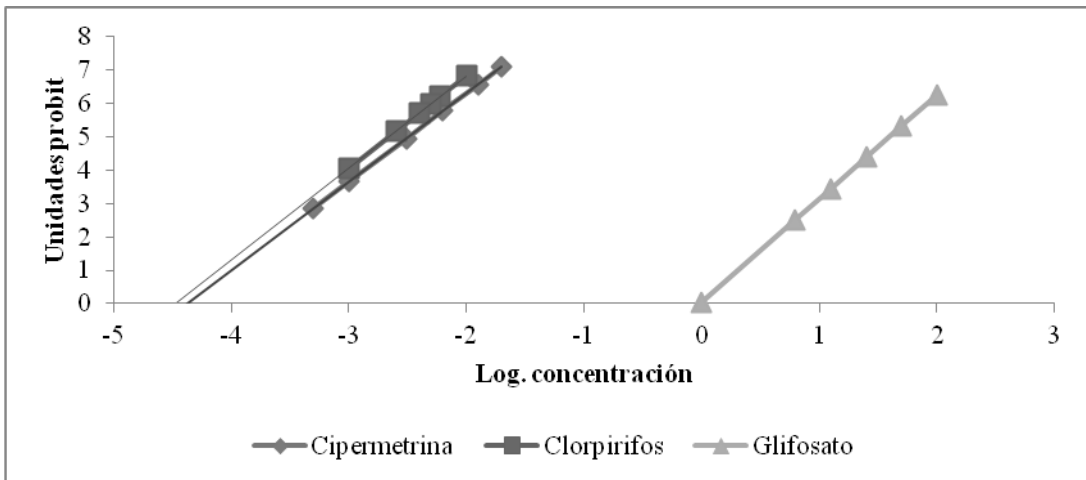


Fig. 2: Rectas de regresión para el modelo Log-Probit sobre *D. magna* 24 horas, para cada uno de los plaguicidas ensayados

Parámetros químicos

El conocimiento de las características fisicoquímicas de las aguas, es un requisito importante a fin de determinar si las condiciones son apropiadas para realizar los ensayos toxicológicos. Paralelamente los datos se compararon con el padrón

nacional de calidad de aguas, establecidas en la Resolución N° 222/02 de la SEAM (SEAM 2002), esto a fin de determinar si las corrientes hídricas reunían las características para aguas de su clase.

Las determinaciones fisicoquímicas realizadas indican que en la mayoría de los

casos, las aguas pertenecen a la Clase I y la Clase II según los parámetros de la SEAM; determinaciones que sobrepasaron los valores la Clase I, son: la DBO₅; en una ocasión (AP4) los niveles de fósforo orgánico total durante tres muestreos en AP1 y en una ocasión en AP4 (Tabla 2), ambos pertenecientes a la zona control dentro de la reserva.

Para los fines estadísticos, los valores que caen bajo la denominación menor al límite de detección (<), se asume dicho valor como tal para el analito en cuestión. El análisis estadístico de los resultados, permitió determinar que existen diferencias respecto al punto control (AP1). En relación a la los niveles de pH, a lo largo de las siete campañas de muestreo se aprecia una diferencia significativa ($p < 0,001$) al comparar el punto AP1 con los demás sitios (AP2, AP3, AP4 y AP5). AP1, posee aguas más ácidas (pH 6,69 \pm 0,11) respecto a los demás puntos (Tabla 2). Esta diferencia puede atribuirse a la presencia de material húmico en el agua, considerando que el área de muestreo se encuentra en un bosque. Rojas & Díaz (2014) reportan valores de pH en aguas de pozo de ciudades aledañas: 7,23 (UpH) en Itapúa Poty; 7,55 (UpH) en San Rafael del Paraná y de 6,53 (UpH) en Alto Verá.

Al comparar las concentraciones de nitrato de las muestras provenientes de los agroecosistemas AP2 ($p = 0,023$) y AP5 ($p < 0,001$), las diferencias respecto al punto control (AP1) fueron significativamente superiores a un nivel de $p < 0,05$ al comparar los siete muestreos (Tabla 2). Estas diferencias se pueden asociar al uso intensivo de fertilizantes a base de nitratos, que llegaría hasta las aguas de los arroyos mediante las escorrentías. Rojas & Díaz (2014) reportan

valores de N-Nitrato en aguas de pozo para la Ciudad de Encarnación 0,93 mg.l⁻¹; Hoenau 1,33 mg.l⁻¹, 0,47 mg.l⁻¹ para Edelira; y San Juan del Paraná 1,76 mg.l⁻¹; estos datos, indican que los valores de N-Nitrato de las aguas, son similares, e inclusive menores a los reportados para aguas de pozos profundos.

El tercer parámetro que mostró diferencias significativas respecto al punto AP1, fue la dureza medida en AP5 (Tabla 2). No obstante el valor promedio de $48 \pm 15,51$ mgCaCO₃.l⁻¹ es similar a las concentraciones reportadas por Rojas & Díaz (2014), para pozos profundos de las siguientes ciudades aledañas: Edelira 47,63 mgCaCO₃.l⁻¹ y Tomás Romero Pereira 42,2 mg. CaCO₃.l⁻¹.

En ninguna de las muestras se encontraron cantidades detectables de los biocidas clorpirifos y cipermetrina. En el Paraguay, y más específicamente en el Departamento de Itapúa, se disponen de escasos registros de estudios de niveles de insecticidas y herbicidas en agua. Entre los pocos estudios, se cuenta un trabajo realizado entre los meses de octubre y noviembre de 2009, desarrollado en el marco del Análisis de agroquímicos en aguas superficiales y subterráneas en la cuenca hídrica del Arroyo Capiibary, Dpto. Itapúa (Houben *et al.* 2010), se realizaron colectas de tres cuerpos de aguas de zonas agrícolas, antes y después de la siembra. Se analizaron 598 principios activos y metabolitos incluyendo glifosato, cipermetrina y clorpirifos, en laboratorios de la empresa SOFIA GmbH de Berlín, Alemania. En el informe reportan que no se encontraron concentraciones de los analitos buscados, que estén por encima de los límites de detección, y afirman que las aguas estudiadas están libres de estos

contaminantes. Los mismos autores explican que la ausencia de agroquímicos en las aguas estudiadas se debe principalmente al clima, que favorece la actividad microbiana, ayudando así a la descomposición de los contaminantes; además la granulometría muy fina del suelo retrasa la infiltración del agua; a esto se sumaría el elevado contenido de humus y óxidos de hierro en las capas superiores del suelo, lo que retrasaría su propagación.

A nivel regional; es posible encontrar estudios realizados en la Cuenca del Paraná. Peruzzo, (2008) reportan niveles de glifosato entre 0,1 y 0,7 mg.l⁻¹ en aguas, y 0,5-5 mg.kg⁻¹ en sedimentos de arroyos asociados a cultivos de soja en la región norte de la Pampa Argentina. En otro trabajo realizado en la misma región (Jergentz *et al.* 2005) determinaron la presencia de plaguicidas utilizados en la producción de soja, en muestras de aguas,

sedimentos y en escorrentía de lluvias; encontraron picos de concentración en aguas de 0.45 mg.l⁻¹ de clorpirifos y de 0.71 mg.l⁻¹ de cipermetrina, además informan presencia en las aguas y los sedimentos de las escorrentías tras episodios de lluvias post aplicación de los productos, reportando niveles de clorpirifos de 0,28 µg.l⁻¹ y 30,3 µg.kg⁻¹ en agua y sedimento respectivamente.

Otro punto a considerar al buscar plaguicidas en agua, es la concentración de la muestra, proceso que no fue realizado para este estudio; otros investigadores (Mugni *et al.* 2010; Carriquiriborde *et al.* 2007; Demetrio 2012; Jergentz *et al.* 2005) mencionan extracción con solventes orgánicos, concentración por roto-evaporación, entre otros métodos realizados previo a la determinación en HPL.

Tabla 2. Valores promedios de los parámetros fisicoquímicos analizados durante los siete muestreos

Parámetros	AP1		AP2		AP3		AP4		AP5		^a Ref.- Res. SEAM
	µ	S.D	µ	S.D	µ	S.D	µ	S.D	µ	S.D	
PH (UpH)	6,69	0,11	7,55*	0,14	7,36*	0,10	7,47*	0,35	7,83*	0,43	6,0 - 9,0
N-Nitrato (mgN/L)	0,18	0,07	0,86*	0,41	0,75	0,44	0,25	0,38	1,39*	0,88	10
Fósforo total (mg/L)	0,05	0,01	0,04	0,01	0,03	0,01	0,04	0,02	0,04	0,01	0,05
Sulfato (mg/L)	1,76	0,83	1,09	0,71	0,93	0,75	1,82	0,67	1,83	1,09	250
Dureza (mgCaCO3/L)	20,91	2,33	21,70	2,61	28,40	6,02	23,68	12,28	48,0*	15,51	300
O.D (mgO2/L)	7,77	1,03	8,83	0,98	8,49	1,13	8,61	0,91	8,13	1,53	>5
D.B.O.5(mgO2/L)	1,83	1,64	1,58	1,05	1,47	1,14	3,37	2,26	1,88	1,05	≤5

Nota: valor promedio (µ)± desviación estándar (S.D). *Las diferencias son significativas para p<0,05 (Método de Dunnett). ^aClase 2.Establecida por la Resolución N° 222/02 de la SEAM

Toxicidad aguda de aguas y sedimentos en *D. magna* y *L. sativa*

Los resultados de los bioensayos con *D. magna* confirman que no se presentaron efectos letales importantes sobre el

microcrustáceo (Tabla 3), solo en algunos casos puntuales se llegó hasta una CL_{10} o como máximo a una CL_{20} al 100% de la concentración, como ser las muestras de agua AP2 y AP3 en el sexto muestreo. Igualmente en los análisis de los elutriados no se detectaron efectos agudos. En general, tras las 48 horas de duración de cada ensayo, se observó un mejor crecimiento en los individuos expuestos a las muestras de agua y a los elutriados de los sedimentos; según Sánchez Arguello (2002) esto puede explicarse por la presencia de materia orgánica que sirve de alimentos a los neonatos.

En un estudio similar, realizado en agroecosistemas relacionados a cultivo de soja de la región pampeana Argentina, Demetrio (2012) reportó resultados similares en lo referente a la toxicidad aguda en *D. magna* e *Hidra attenuata*; en el trabajo se monitoreó un tributario del Arroyo el Pescado, no detectándose efectos agudos superiores a CL_{10} con los organismos modelos. Según el mismo autor, los escenarios de exposición a plaguicidas se presentarían en forma discontinua, a modo de pulsaciones tóxicas, esto como resultado del arrastre de los contaminantes hasta los arroyos, causadas por sucesos como: escorrentías superficiales que se presentan por las lluvias que suceden tras las aplicaciones de los plaguicidas a los cultivos; además de otras condiciones como ser los procedentes de derrames, accidentes o mal manejo por parte de los productores.

Al igual que en el ensayo anterior, los test con *L. sativa* no detectaron efectos que inhiban el crecimiento radicular de esta planta vascular. Al comparar el crecimiento relativo, de las raicillas de *Lactuca sativa*, expuestas a las aguas y los

elutriados de sedimentos, se observa, que en general se produjo un estímulo en el crecimiento respecto al control. La inhibición (IP) que superen el 5% solamente se registró en el 11% de las muestras de agua. Los elutriados de sedimentos presentaron inhibiciones entre 5-15% en el 28% de las muestras. No obstante en ninguno de los caso se llegó a una IP de - 50%.

Toxicidad crónica

El análisis estadístico de los resultados puso de manifiesto diferencias significativas ($p < 0,05$); entre el control de laboratorio y los tratamientos en AP2 y AP5 en el segundo muestreo; en AP3 y AP5 en el quinto muestreo y en las muestras tomadas de los puntos AP2, AP3 y AP5 del séptimo muestreo (Tabla 3). En todos los casos en que se encontraron diferencias medias significativas respecto al control de laboratorio, las muestras de aguas provenían de los arroyo de los agroecosistemas. El sitio ubicado en una zona boscosa de la Reserva San Rafael y considerado como punto control de campo (AP1), no presentó en ningún caso efectos crónicos medibles sobre *D. magna*, ratificando las buenas condiciones del agua de este lugar, que se encuentra próxima a su nacimiento.

Los test de reproducción son considerados parámetros muy sensibles a la presencia de tóxicos a bajas concentraciones (Liu *et al* 2012; Zalizniak y Nugeoda, 2006). Para los ensayos crónicos las muestreas no se filtraron para eliminar algas y otras partículas, de tal forma a que se pueda observar los efectos indirectos por exposición a través del alimento, considerando que de esta forma se puedan ejercer los efectos de ciertos

contaminantes. Algunos autores resaltan el papel de la alimentación de los cladóceros durante el ensayo de reproducción, las características del agua y el efecto de la filtración, y que su importancia podría ser mayor, que los propios efectos tóxicos del agua (Sánchez Arguello 2002). No se pudo

asociar el descenso en la fecundidad observada con la presencia de plaguicidas en las muestras. Por lo tanto la toxicidad pudo deberse al efecto de otros pesticidas no blanco, a los componentes naturales, o a la combinación de estos.

Tabla 3. Resumen de los ensayos ecotoxicológicos.

Test/especie	Toxicidad	
	Agua (campana de muestreo / sitio)	Extracto de sedimento(campana de muestreo/ sitio)
Agudo / <i>D. magna</i>	N. d	N. d
Agudo / <i>L. sativa</i>	N. d	N. d
Crónico / <i>D. magna</i>	2 (AP2 y AP5)	-
	5 (AP3 y AP5)	
	7 (AP2, AP3 y AP5)	

N.d: Toxicidad no detectada

CONCLUSIONES

Los valores de CE₅₀ de la cipermetrina y el clorpirifos obtenidos con *D. magna* fueron similares a los reportados por otros estudios; mientras que la CE₅₀ del glifosato fue superior, es decir menos tóxica que lo reportado por otros trabajos. El orden de toxicidad de los plaguicidas frente al cladóceros queda como sigue: clorpirifos>cipermetrina>glifosato.

Resultados similares se obtuvo al evaluar la toxicidad del glifosato F, frente a *L. sativa*; de esta forma se puede reforzar la idea de evaluar los efectos ecotoxicológicos de los plaguicidas, mediante los ingredientes activos, para evitar subestimar efectos.

Los análisis fisicoquímicos convencionales de aguas arrojan información relevante sobre la mayor presencia de nutrientes en aguas de los arroyos que circundan por los agroecosistemas, este fue el caso para el nitrógeno en forma de nitrato, cuyo

comportamiento se debería al uso de fertilizantes en las zonas de cultivos.

No se detectó la presencia de plaguicidas, en un total de 10 muestras de aguas analizadas, de las cuales 6 corresponden a agroecosistemas.

Las pruebas de toxicidad aguda en los organismos de prueba, tanto en *D. magna* y *L. sativa*, no evidenciaron la presencia de muestras de agua y sedimentos que puedan producir efectos adversos. Las tasas de mortalidad de *Daphnia*, o la inhibición del crecimiento observados en algunos tratamientos de *Lactuca*, se encuentran dentro de márgenes tolerables, y difícil de atribuir a la presencia de contaminantes en el agua o los sedimentos. En general, se observó en los resultados un estímulo positivo del crecimiento de las raíces de *L. sativa*.

Se corroboró la sensibilidad del ensayo crónico de 21 días de exposición con *D. magna*. Las muestras de agua de los agroecosistemas AP2, AP3 y AP5 presentaron efectos crónicos determinados

mediante la fecundidad promedio durante el tiempo de estudio.

AGRADECIMIENTOS

Para Andrea Weiler de Albertini, por gestionar la beca en el marco del Proyecto 11-CAP2-1434: Cátedra UNESCO “Educación para el Desarrollo Sostenible: Fortalecimiento de líneas de investigación locales en el área de biodiversidad y de la vinculación con la sociedad”; mediante la cual pudo realizarse el estudio. A Francisco Ferreira y Abelardo Duarte, por colaborar con la determinación de los biocidas por HPLC. A Nidia Benítez, por la revisión del inglés.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2nd. ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Baral, A.; Engelken, R.; Stephens W.; Farris, J.; Hannigan, R. 2006. Evaluation of Aquatic Toxicities of Chromium and Chromium-Containing Effluents in Reference to Chromium Electroplating Industries. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 50 (4): 496–502.
- Carriquiriborde, P.; Díaz, J., Mugni, H.; Bonetto, C.; Ronco, A. 2007. Impact of cypermethrin on stream fish populations under field-use in biotech-soybean production. *Chemosphere* 68: 613–21.
- Castillo Morales, G.; Díaz Báez, M.; Granado, Y.; Ronco, A.; Sobrero, C.; Bulus, G.; Feola, G.; Forget, G.; Sánchez-Bain, B. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Gabriela Castillo, M (ed.). México: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo.
- Cuhra, M.; Traavik, T.; Bøhn, T. 2013. Clone- and age-dependent toxicity of a glyphosate commercial formulation and its active ingredient in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology* 22 (2): 251–62.
- Demetrio, P. 2012. Estudio de efectos biológicos de plaguicidas utilizados en cultivos de Soja RR y evaluación de impactos adversos en ambientes acuáticos de agroecosistemas de la región pampeana. Tesis presentada a la Universidad Nacional de la Plata. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/18139/Documento_completo.pdf?sequence=1.
- Dutka, B.; Kwan, K.; Rao, S.; Jurkovic, A.; McInnis, R.; Palmateer, G.; Hawkins, B. 1991. Use of bioassays to evaluate river water and sediment quality. *Environmental Toxicology & Water Quality* 6 (3): 309–27.
- EPA. 1994. *Reregistration Eligibility Decision RED. Glyphosate*. <http://cfpub.epa.gov/ecotox/>.
- Guilhermino, L.; Diamantino, T.; Silva, M.; Soares, A. 2000. Acute toxicity test with *Daphnia magna*: An alternative to mammals in the prescreening of chemical toxicity? *Ecotoxicology and Environmental Safety* 46 (3): 357–62.
- Houben, G.; Eisenkölbl, A.; Larroza, F. 2010. Informe técnico sobre análisis de agroquímicos en aguas superficiales y subterráneas en la cuenca del Arroyo Capiibary, Departamento Itapua, Paraguay.
- Jergentz, S.; Mugni, H.; Bonetto, C.; Schulz, R. 2005. Assessment of

- insecticide contamination in runoff and stream water of small agricultural streams in the main soybean area of Argentina. *Chemosphere* 61 (6): 817–26.
- Lallana, M.; Foti, M.; Lallana, V.; Elizalde, J.; Billard, C. 2015. Determinación de reducción del crecimiento radical (CE50) por una formulación de glifosato utilizando lechuga y trigo como especies bioindicadoras. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo* 45 (1). Acceso Junio 6. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1853-86652013000100013&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- Liu, Y.; Qi, S.; Zhang, W.; Li, X.; Qiu, L.; Wang, C. 2012. Acute and chronic toxicity of buprofezin on *Daphnia magna* and the recovery evaluation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 89 (5): 966–69.
- Martin, M.; Ronco, A. 2006. Effect of Mixtures of Pesticides Used in the Direct Seeding Technique on Non target Plant Seeds. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 77 (2): 228–36.
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 2010. Producción de Soja en el Paraguay: Zafra 2008/2010. <http://www.mag.gov.py/dgp/PARAGUAY ISA 2008 2010 14 06 10.pdf>.
- Mugni, H.; Demetrio, P.; Marino, D.; Ronco, A.; Bonetto, C. 2010. Toxicity persistence following an experimental cypermethrin and chlorpyrifos application in pampasic surface waters (Buenos Aires, Argentina). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 84 (5): 524–28.
- OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) 1998. *Daphnia magna* Reproduction Test N° 211. September: 1–21.
- _____. 2004. *Daphnia sp.*, Acute Immobilisation Test, N° 202. April: 1–12.
- Peruzzo, P.; Porta, A.; Ronco, A. 2008. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in North Pampasic Region of Argentina. *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)* 156 (1): 61–66.
- PPDB. 2014a. Chlorpyrifos. Pesticide Properties. Data Base- University of Hertfordshire. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/154.htm>.
- _____. 2014b. Cypermethrin. *Pesticide Properties Data Base*. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/24.htm#none>.
- Ramírez Romero, P.; Mendoza Cantú, A. 1998. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. 1ra. ed. México: Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).
- Rodríguez, P.; Martínez-Madrid, M.; Cid, A. 2006. Ecotoxicological assessment of effluents in the Basque Country (Northern Spain) by acute and chronic toxicity tests using *Daphnia magna* Straus. *Ecotoxicology* 15 (7): 559–72.
- Rojas, H.; Díaz, T. 2014. Calidad de agua subterránea. Perforaciones entubadas profunda de abastecimiento público de la Región Oriental. San Lorenzo: Universidad Nacional de

- Asunción/Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- Rojas Ozuna, A.; Rolón, P.; Galeano S., M. 2014. Caracterización taxonómica del suelo y uso actual de la tierra del Departamento Itapúa. Bases para la planificación del uso de la tierra. En: Causarano, H.; Leguizamón, C. *III Congreso Nacional de Ciencias Agrarias*. San Lorenzo: Facultad de Ciencias Agrarias. 283–284.
- Sánchez Arguello, P. 2002. Valoración ecotoxicológica de la contaminación de origen agrario: Incorporación de bioensayos en los protocolos de evaluación de riesgo ambiental. Universidad Complutense de Madrid. <http://eprints.ucm.es/4596/>.
- SEAM (Secretaria del Ambiente). 2002. Resolución N° 222. Por el cual se establece el padrón de calidad de las aguas del territorio Nacional. Paraguay.
- Wernersson, A.; Dave, G. 1997. Phototoxicity Identification by Solid Phase Extraction and Photoinduced Toxicity to *Daphnia magna*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 273: 268–73.
- WHO. 1989. ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 82: Cypermethrin. *World Health Organization*. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc82.htm>.
- _____. 1994. ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 159: GLYPHOSATE. *World Health Organization*. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc159.htm>.
- Zalizniak, L.; Nugegoda, D. 2006. Effect of sublethal concentrations of chlorpyrifos on three successive generations of *Daphnia carinata*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 64: 207–214.

Guía para Autores

Objetivos y alcance de la revista

Steviana es una publicación de investigación primaria que cubre todas las líneas de trabajo dentro del área de la Botánica. Los artículos publicados en *Steviana*, serán de interés para especialistas dentro de este campo. Los resultados y conclusiones principales no deben haber sido publicados en ningún otro lugar.

Responsabilidades del Cuerpo Editorial

Las decisiones editoriales en *Steviana* son tomadas por los miembros del Cuerpo Editorial, quienes manejan el proceso de revisión por pares y deciden qué manuscritos serán publicados.

Formato de los artículos

Steviana publica investigaciones originales (artículos) y revisiones (reviews). Los autores deberán considerar las siguientes pautas:

- Los artículos originales no deben sobrepasar las 15 páginas. El texto principal (**sin incluir** el resumen, los métodos, las referencias y las leyendas al pie de las figuras) no debe tener más de 4500 palabras. La extensión máxima del título es de 15 palabras. El resumen no debe tener más de 150 palabras ni contener referencias.
- El texto principal debe seguir los siguientes delineamientos: Título, Autores, Filiación de autores (superíndice numerado), Título seguido de un resumen, Palabras claves, Título (inglés) seguidos de resumen en inglés, Palabras claves en inglés, Introducción que se explique sobre los antecedentes del trabajo (alguna coincidencia con el Resumen es aceptable), seguido de secciones con los encabezados Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones y Referencias. Las secciones pueden dividirse con subtítulos temáticos; la Discusión debe ser **concisa** y no puede contener subtítulos. La sección de Métodos debe limitarse a 1500 palabras. Los pies de figura están limitados a 350 palabras.
- Los artículos de revisión serán aceptados cuando los mismos sean encomendados por el Cuerpo Editorial a profesionales competentes en el tema y seguirán las normas de presentación de un artículo científico, substituyendo sin embargo metodología, resultados y discusión, por el desarrollo comentado de la revisión, sin alterar las demás partes.
- Los artículos son revisados por pares e incluyen fechas de recepción y aceptación. Los autores deben proveer una declaración sobre conflictos de intereses dentro del archivo del manuscrito.

Información general para la presentación de manuscritos

Las solicitudes incluyen una carta de presentación, un archivo de texto manuscrito, archivos de figuras individuales y archivos opcionales de Información Suplementaria. Los autores deben notar que solamente los siguientes tipos de archivos pueden ser levantados como textos y figuras para artículos:

Para texto: .txt (LaTeX), .doc, .docx, .tex (LaTeX), .odt.

Para figuras: .eps, .tiff, .jpg, .png

Si el artículo no incluye fórmulas, le alentamos a que lo presente en .txt, .odt, .doc o .docx en lugar de en .tex.

Las abreviaciones, particularmente aquellas que no sean estándar, deben también ser mantenidas al mínimo. Cuando sea inevitable, las abreviaciones deben ser definidas en el texto o leyendas en su primera utilización, y deben ser usadas exclusivamente desde ese momento. La introducción, las justificaciones y las conclusiones principales del estudio deben estar claramente explicadas.

Guía para los autores

Carta de presentación

Los autores deben proveer una carta de presentación que incluya su afiliación y su información de contacto. Deben explicar brevemente por qué el trabajo es considerado como apropiado para *Steviana*.

Formato de los manuscritos

En la mayoría de los casos no imponemos límites estrictos a la extensión en palabras y páginas, sin embargo alentamos a los autores a que escriban de manera concisa y les sugerimos observar las pautas siguientes:

- *Microsoft Word/LibreOffice Writer* – El archivo manuscrito debe tener un formato de interlineado doble y una sola columna, sin justificación. Las páginas deben ser numeradas al pie con números arábigos.
- *TeX/LaTeX* – los autores que presenten archivos LaTeX pueden utilizar cualquiera de los tipos estándar de archivos; como `article.cls`, `revtext.cls` o `amsart.cls`. Para la inclusión de gráficos, recomendamos `graphicx.sty`. Las referencias deben ser incluidas dentro del archivo del manuscrito. Como precaución final, los autores deben asegurarse de que el archivo `.tex` completo compile exitosamente en su propio sistema sin errores ni advertencias, antes del envío.

Nomenclatura y abreviaciones químicas y biológicas

Las estructuras moleculares son identificadas por números arábigos en negrita que les son asignados en orden de presentación en el texto. Una vez identificadas en el texto principal o en una figura los compuestos deben ser llamados por su nombre, por una abreviación definida, o por el número arábigo en negrita (mientras el compuesto sea nombrado consistentemente de una de estas tres formas). Siempre que sea posible, los autores deben referirse a los compuestos químicos y las biomoléculas usando la nomenclatura sistemática, preferentemente utilizando IUPAC.

Materiales y Métodos

Los autores deben limitar la sección de Métodos a 1500 palabras y deben asegurarse de que su sección de Métodos incluya datos experimentales y de caracterización necesarios para que otros en el área reproduzcan su trabajo. Las descripciones de protocolos estándar y procedimientos experimentales deben ser dadas. Los autores deben describir el protocolo experimental en detalle, refiriéndose a las cantidades de los reactivos en paréntesis, cuando sea posible (ej.: 1.03 g, 0.100 mmol). La masa aislada y el rendimiento porcentual deben ser reportados al final de cada protocolo.

Pautas estadísticas

Cada artículo que contiene pruebas estadísticas debe especificar el nombre del *test* estadístico, el valor *n* para cada análisis estadístico, las comparaciones de interés, una justificación para el uso de ese *test* (incluyendo, por ejemplo, una discusión de la normalidad de los datos cuando el *test* es apropiado sólo para datos normales), el nivel alfa para todos los *tests*, si los *tests* tuvieron una o dos colas, y el valor *P* real para cada *test* (no meramente “significativo” o “ $P < 0.05$ ”). Debe ser claro qué test estadístico fue utilizado para generar cada valor *P*. El uso de la palabra “significativo” debe estar siempre acompañado de un valor *P*; de lo contrario, utilice “sustancial”, “considerable”, etc.

Los conjuntos de datos deben ser resumidos con estadística descriptiva, la cual debe incluir el valor *n* para cada conjunto de datos, una medida de tendencia central claramente catalogada (como la media o la mediana), y una medida de variabilidad claramente catalogada (como desviación estándar o rango). Los rangos son más apropiados que las desviaciones estándar o errores estándar para conjuntos pequeños de datos. Los gráficos deben incluir **barras de error** claramente

señaladas. Los autores deben declarar si un número que sigue a un signo \pm es un error estándar (SEM) o una desviación estándar (SD).

Caracterización de materiales químicos y biomoleculares

Los autores deben proveer datos adecuados para sostener su asignación de identidad y pureza para cada nuevo compuesto descrito en el manuscrito. Los autores deben proveer una declaración confirmando la fuente, identidad y pureza de compuestos conocidos que sean centrales al estudio científico, incluso si son comprados o resintetizados utilizando métodos publicados.

Referencias

Las referencias serán electrónicamente vinculadas a bases de datos externas cuando sea posible, lo que hace que la corrección del formato sea esencial. Sólo artículos que hayan sido publicados o aceptados por una publicación identificada o un servidor de pre-impresiones reconocido deben incluirse; las pre-impresiones de artículos aceptados en la lista de referencias deben ser presentadas con el manuscrito. Los resúmenes publicados de conferencias y las patentes numeradas pueden incluirse en la lista de referencias. En cuanto a las referencias bibliográficas, todas las publicaciones deberán seguir el estilo: *Chicago Manual of Style (author-date)*. Ejemplos:

Libro:

NRC (National Research Council). 1996. Understanding risk: Informing decisions in a democratic society. Washington, D.C: National Academic Press. 500p.

Sección de un libro:

Blancas, L, D. M Arias, y N. C Ellstrand. 2002. «Patterns of genetic diversity in sympatric and allopatric populations of maize and its wild relative teosinte in Mexico: Evidence for hybridization». En Scientific methods workshop: Ecological and agronomic consequences of gene flow from transgenic crops to wild relatives, ed. A. A Snow, 31–38. Meeting Proceedings. Columbus, Ohio.

Publicación en revista científica:

Chavez, Nancy, Jose Flores, Joseph Martin, Norman Ellstrand, Roberto Guadagnuolo, Sylvia Heredia, y Shana Welles. 2012. Maize x Teosinte Hybrid Cobs Do Not Prevent Crop Gene Introgression. *Economic Botany* 66 (2): 132–137. doi:10.1007/s12231-012-9195-2.

Tesis:

Wilkes, H. G. 1967. Teosinte: The closest relative of maize. Ph.D. thesis, Cambridge, Massachusetts: Harvard University.

Página web:

Kew Royal Botanic Gardens. 2011. Kew Economic Botany Collection. *Kew Royal Botanic Gardens*. <http://apps.kew.org/ecbot/search>.

Pies de figura

Las tablas y figuras deberán ser numeradas secuencialmente en el texto. Los pies de figura comienzan con un breve título para toda la figura y continúan con una descripción breve de lo que se observa en cada panel en secuencia y los símbolos usados. Cada leyenda debe totalizar no más de 350 palabras.

Tablas

Presente sus tablas al final de su documento de texto (en Word o TeX/LaTeX). Las tablas que incluyan análisis estadísticos de datos deben describir sus estándares de análisis de error y rangos en un pie de tabla.

Guía para los autores

Ecuaciones

Las ecuaciones y las expresiones matemáticas deben ser provistas en el texto principal del artículo. Las ecuaciones que son citadas en el texto se identifican con números entre paréntesis, tales como (1), y son citadas en el manuscrito como “ecuación (1)”.

Si su manuscrito estará en formato .docx y contiene ecuaciones, debe asegurarse de que sus ecuaciones sean editables cuando el archivo entre a producción.

Figuras para la publicación

Prepare figuras que quepan en una (87 mm de ancho) o dos columnas (180 mm de ancho). Los autores son responsables de la obtención de permisos para la publicación de cualquier figura o ilustración que estén protegidas por derechos de autor, incluyendo figuras publicadas en otros lugares y fotografías tomadas por fotógrafos profesionales. La revista no puede publicar imágenes descargadas de internet sin los permisos correspondientes.

Gráficos, tablas y esquemas

Todos los gráficos y los esquemas deben ser proveídos en un formato vectorial, tal como EPS (preferido), y deben ser guardados o exportados como tales directamente desde la aplicación en la que fueron hechos. No deben ser guardados como mapas de bits, jpegs u otros tipos de archivo no vectoriales a menos que sea estrictamente necesario.

Imágenes fotográficas y de mapas de bits

Todas las imágenes fotográficas y de mapas de bits deben ser enviadas en formato TIFF (preferido) o JPEG a 300 DPI de ser posible. No presente archivos de Word o PowerPoint con imágenes colocadas.

Estructuras químicas

Las estructuras químicas deben producirse con *ChemDraw* o un programa similar. A todos los compuestos químicos se les debe asignar un número arábigo en negrita de acuerdo al orden en el que son presentados en el texto manuscrito.

Políticas de presentación

La presentación a *Steviana* se interpreta como que el manuscrito no ha sido ya publicado en ninguna otra parte. Si un trabajo similar o relacionado se ha publicado o presentado en algún otro lugar, los autores deben proveer una copia con el artículo presentado. Los autores no podrán presentar el artículo en ningún otro lugar mientras esté puesto a consideración en *Steviana*.

La afiliación primaria para cada autor debe ser la institución en donde ha hecho **la mayor parte de su trabajo**. Si el autor se ha cambiado posteriormente, la dirección actual también se puede mencionar.

Steviana se reserva el derecho de rechazar un artículo incluso después de que haya sido aceptado si se vuelve patente la existencia de serios problemas con el contenido científico o con violaciones de nuestras políticas de publicación.

Revisión por pares

El trabajo será recepcionado por el Asistente de edición, quien remitirá a los miembros del Cuerpo Editorial. Los trabajos podrán ser revisados por uno o más miembros del Cuerpo editorial si lo creyere conveniente. El autor correspondiente será notificado por email cuando un Miembro del Comité Científico decida si el artículo ha de ser revisado o no. En este momento el Miembro del Comité Científico tiene dos opciones:

- El Cuerpo Editorial puede elegir contactar a uno o más árbitro(s) no asociado(s) con *Steviana* para conducir la revisión por pares.
- El Cuerpo Editorial puede elegir conducir la revisión por pares, él mismo, o por los miembros del Comité científico si necesario fuere, a base de su propia experiencia y pericia.

Luego de la consideración el Miembro del Comité Científico tomará una de las siguientes decisiones:

- Aceptar el artículo, con o sin revisiones editoriales.
- Invitar a los autores a revisar su manuscrito para dirigirse a inquietudes específicas antes de que sea tomada una decisión final.
- Rechazar el artículo, indicando a los autores que mayor trabajo podría justificar un nuevo intento de publicación.
- Rechazar el artículo por completo.

Durante la etapa de presentación, los autores pueden indicar un número limitado de científicos que no deben revisar el artículo. Los científicos excluidos deben ser identificados por su nombre. Los autores también pueden sugerir potenciales revisores; estas sugerencias suelen ser de ayuda, aunque no siempre son seguidas. La identidad de los árbitros no es revelada a los autores, excepto a solicitud de los árbitros.

Decisión post-revisión

En los casos en que los árbitros hayan solicitado cambios bien definidos al manuscrito que no parezcan requerir experimentación extensiva adicional, el Cuerpo Editorial puede solicitar un manuscrito revisado que responda a las inquietudes de los árbitros. La carta de decisión especificará un plazo, y las revisiones que sean devueltas dentro de este periodo retendrán la fecha original de su presentación.

En los casos en que las inquietudes de los árbitros que tengan un mayor alcance, el Cuerpo Editorial normalmente rechazará el manuscrito. Si el Miembro del Comité considera que el trabajo es de interés potencial para la revista, sin embargo, podrá expresar interés en que el artículo vuelva a ser presentado.

Presentación final y aceptación

Cuando todas las recomendaciones editoriales se hayan resuelto, el artículo es finalmente aceptado. La fecha de recepción es la fecha en la que los editores recibieron el manuscrito original (o si había sido previamente rechazado, la fecha en la que recibieron el manuscrito por segunda vez). La fecha de aceptación es aquella en la que el Cuerpo Editorial envía la carta de aceptación.

Selección de árbitros

La selección de árbitros es crítica para el proceso de revisión, y el Cuerpo Editorial debe basar su decisión en varios factores, incluyendo pericia, recomendaciones específicas, y experiencia previa.

Redacción de la revisión

Al redactar la revisión, los árbitros deben mantener en mente que están evaluando el manuscrito en términos de su solidez técnica. De manera a permitir decisiones rápidas y fáciles hemos desarrollado una plantilla de base técnica. El proceso de revisión responderá las siguientes preguntas:

1. La información contenida en el artículo es novedoso y publicable?
2. Contiene el título las palabras necesarias que representan todo el contenido del artículo?
3. La introducción está elaborada de acuerdo a los requerimientos del contenido del artículo?
4. Los antecedentes mencionados en la introducción están acorde a los requerimientos del tema abordado?
5. Está enunciada la hipótesis planteada en el trabajo?
6. La metodología tiene una secuencia lógica que permite el desarrollo del problema abordado y está diseñado según el método científico?

Guía para los autores

7. La metodología está de acuerdo a los objetivos, con bases bibliográficas actualizadas y cumple con las condiciones establecidas de la metodología científica?
8. Se utiliza en la metodología los estándares requeridos para el cumplimiento de los objetivos pre establecidos?
9. La metodología está claramente enunciada de manera a facilitar la repetición de la misma en otros trabajos?
10. Los resultados se presentan ordenadamente, siguiendo la secuencia lógica para la comprensión del contenido del trabajo además de presentar Tablas y gráficos adecuados?
11. Los resultados contienen información correcta y válida de acuerdo a la metodología utilizada?
12. Están confrontados adecuadamente los resultados con trabajos realizados por otros investigadores?
13. La información cuantitativa se presentan de la manera que exigen la metodología científica?
14. Se explica adecuadamente los resultados obtenidos fundamentando las causas posibles de cada resultado?
15. La elaboración de las conclusiones están acorde a los objetivos planteados en el trabajo?
16. Se mencionan los puntos esenciales logrados en las conclusiones?
17. Se mencionan las recomendaciones necesarias que permitirán desarrollar otras investigaciones
18. Están las referencias bibliográficas incluidas en el texto y correctamente citadas?

Confidencialidad

El proceso de revisión es **estrictamente confidencial**, por tal motivo los miembros del Cuerpo Editorial y los árbitros externos no podrán discutir el manuscrito con personas ajenas a la revisión del mismo.

Plazos

Los árbitros deberán responder con celeridad (dentro de una semana de haber recibido un manuscrito, aunque esto puede ser extendido o disminuido por acuerdo previo). Si los árbitros prevén un retraso mayor, deberán notificar al Cuerpo Editorial de manera se pueda mantener a los autores informados y cuando sea necesario, encontrar árbitros alternativos.

Anonimato

No revelamos la identidad de los árbitros a los autores o a otros árbitros, excepto cuando los árbitros soliciten específicamente ser identificados.

Edición de los reportes de los árbitros

Como una cuestión de política, no suprimimos los reportes de los árbitros; cualquier comentario dirigido a los autores serán transmitidas sin ninguna modificación. Así mismo, los árbitros deben evitar ofensa innecesaria; en cambio, los autores deben reconocer que las críticas no son necesariamente injustas simplemente porque estén expresadas en un lenguaje claro, conciso y directo.

Conflictos de intereses

Nuestra política es evitar Miembros del Cuerpo Editorial y árbitros que los autores hayan excluido, por cualquier razón. También tratamos de evitar a árbitros que tienen colaboraciones recientes o en curso con los autores, que hayan comentado en borradores del manuscrito, que estén en directa competencia para publicar la misma novedad científica, o por motivos de disputa con los autores, o que tengan un interés financiero en el resultado.

Steviana, Vol. 7, 2015

Información de contacto

Para preguntas editoriales generales relacionadas con *Steviana*, incluyendo consultas sobre la presentación de manuscritos y para consultas relacionadas con la guía para autores, por favor contacte con claudinha_7@hotmail.com

Observación:

La Guía para los autores, in extenso, está disponible en la web: www.facen.una.py

A partir del Vol. 7 los artículos remitidos deberán ser presentados rigurosamente en el formato de la revista y seguir exactamente la guía para autores.

CONTENIDO POR SECCIONES

Biotecnología

- 3 – 24 Evaluación de inocuidad de alimentos y forrajes derivados de cultivos obtenidos por ingeniería genética: utilización de la formulación de problemas
Fernández Ríos, D.; Benítez Candia, N.; Ibarra Salomón, M. J.; Oviedo de Cristaldo, R.; Rubinstein, C.; Vicién, C.; Garcia-Alonso, M.

Etnobotánica

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

Fitoquímica

- 48 - 56 Actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler por el método de captura del radical libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH●)
Martínez, M.; Mancuello, C.; Ramond, F.; Bednarczuk de Oliveira, V.

Flora y Vegetación

- 57 - 73 Diversidad y homogeneidad de especies arbóreas y arbustivas utilizadas como forrajeras alternativas en área de influencia del Arroyo Caañabé, Departamento Paraguarí-Paraguay
Benítez, B.; Bertoni, S.

Micología

- 74 – 78 *Cyathus poeppigii* (Agaricales, Basidiomycetes): nuevo registro para Paraguay
Campi, M.; Maubet, Y.
- 79 – 88 Especies de *Geastrum* (Geastraceae, Basidiomycota) nuevos registros para Paraguay
Campi, M.; Maubet, Y.
- 89 – 95 Análisis de hongos filamentosos presentes en plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya
Reyes, M.; Moura Mendes Arrúa, J.; Casal, C. C.; Fernández Ríos, D.; Martínez, L.; Cabrera, M.; Arrúa Alvarenga, P. D.; Arrua Alvarenga, A. A.

Morfoanatomía Vegetal

- 96 – 101 Morfo-anatomía foliar y caulinar de *Passiflora misera* Kunth (Passifloraceae)
Pereira Sühsner, C.

Toxicología

- 102 – 115 Evaluación ecotoxicológica de arroyos de la reserva San Rafael y su zona de amortiguamiento mediante bioensayos con *Daphnia magna* y *Lactuca sativa*
López Arias, T. R.; Esquivel Mattos, A.; Peris, S.