

Vol. 11(2) – 2019
ISSN 2304-2907 (on line)

Steviana



Haematomma flexuosum Hillman. Talo en fresco, con apotecios. Parque Nacional Ybycui, Paraguari, Paraguay



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



La revista *Steviana* es una publicación semestral, del Laboratorio de Recursos Vegetales (LAREV), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN), la misma fue creada en 2009, y cubre áreas de investigación primaria, en todas las líneas de trabajo en el campo de las ciencias botánicas y áreas relacionadas. Las subsecciones temáticas son: Conservación, Ecología, Etnobotánica y Botánica Económica, Ficología, Fisiología, Biotecnología, Fitoquímica, Flora y Vegetación, Genética y Biología Molecular, Micología, Morfoanatomía Vegetal, Palinología, Sistemática y Taxonomía, Toxicología, entre otras.

Además *Steviana* publica números especiales, tales como: libros y suplementos con los resúmenes de los trabajos presentados a las Jornadas Paraguayas de Botánica.

Cuenta con dos versiones, una impresa con tirada anual (ISSN 2077-8430) y otra on-line con publicación semestral (ISSN 2304-2907). Se publican investigaciones originales (artículos), revisiones (reviews), notas cortas y una sección de noticias, divulgación de redes y eventos, sin costo para los autores.

La revista se encuentra indexada desde el 2012 al Catálogo de Latindex con N° de Folio 21767.

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

Dra. Ana Carolina Mezzonato Pires
Universidade do Estado do Rio de Janeiro –
UERJ. Departamento de Biología Vegetal
Herbarium Bradeanum (HB), Brasil

Dra. Gloria Rodrigo Lira
Unidad de Vigilancia Ambiental y
Genotoxicología. Instituto de Biología
Molecular y Biotecnología.
Universidad Mayor de San Andrés, La Paz,
Bolivia

Dr. Luis Delgado
Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal
Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales.
Universidad de Salamanca, España

Dr. Maximiliano Rugolo
Centro De Investigación. y
Extensión. Forestal Andino-Patagonica.
Argentina

MSc. Viviana Salazar-Vidal
Curadora del Fungario ONG Micófilos
Universidad de Concepción - Chile

MSc. Luis Oakley
Facultad de Ciencias Agrarias,
Universidad Nacional de Rosario.
Campo Experimental Villarino, Santa
Fe, Argentina.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCION

RECTORA

Prof. Dra. Zully Concepción Vera de Molinas

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

María Vera Jiménez

Asistentes de edición

Claudia Mancuello (FACEN – UNA)

Diseño y diagramación

María Vera Jiménez

Fotografía de tapa

Haematoma flexuosum Hillman.

Talo en fresco, con apotecios. Parque Nacional Ybycui, Paraguarí, Paraguay. Autor: Lorena Martínez.

Revisión de escritos en Inglés

Nidia Beatriz Benítez Candia
(FACEN – UNA)

Comité Científico

María de Fátima Mereles H.

Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica – CEDIC

Gloria Yaluff

FACEN-UNA, Paraguay

Claudia Pereira S.

FACEN-UNA, Paraguay

Miguel Angel Martínez

FACEN-UNA, Paraguay

Christian Vogt P.

FACEN-UNA, Paraguay

Michelle Campi G.

FACEN-UNA, Paraguay

Karina Nuñez G.

FACEN-UNA, Paraguay

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

DIRECCIÓN OFICIAL

Facultad de Ciencias Exáctas y Naturales-UNA

Telefono-fax: (595-21) 585 600

Dirección Postal: 1039

Campus Universitario, San Lorenzo-Paraguay

Página web: www.facen.una.py

CONTENIDO POR SECCIONES

Ecología

- 3-40 Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) L. H. Bailey en Paraguay.
Marín Ojeda, G.; Silla Cortés, F.

Micología

- 41-47 *Gymnopus aquosus* (Bull.) Antonín & Noordel. (Agaricales – Omphalotaceae): nuevo registro para la micobiota de Paraguay
Martínez, M. & Niveiro, N.

Palinología

- 48-55 Morfología de los granos de polen de cuatro especies de la familia Acanthaceae presentes en el Cerro koi, Areguá, Departamento Central, Paraguay
Marchi, P.; Delmás G.

Toxicología

- 56-72 Actividades genotóxica y antioxidante del extracto etanólico de flores de *Mangifera indica* L. evaluadas mediante el método de captura del radical DPPH● y detección de alteraciones nucleolares en células meristemáticas de *Allium cepa* L.
Gómez Casco, L.; Dávalos, L.; Leiva, C.; Rotela, Y.; Ucedo, A.; Valdovinos, M.; Vera, G¹; Ocampos, R., De Oliveira, R.; Ferreira, F.; Martínez, M.; Gayozo, E.; Torres, E.

Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) L. H. Bailey en Paraguay

Marín Ojeda, G.^{1*}; Silla Cortés, F.²

¹Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Biología, San Lorenzo, Paraguay

²Facultad de Biología Departamento de Ecología – USAL, Salamanca, España.

*E-mail del autor: griseldamarin@gmail.com

Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) L.H. Bailey en Paraguay. Se presentan los resultados parciales de la tesis "Factores ambientales que determinan los patrones poblacionales de *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) L.H. Bailey (Jata'i) en la Región Oriental del Paraguay", referentes a la densidad de plántulas hallada en el estudio, los factores ambientales que la determinan y la capacidad autoregenerativa de la población. Para el conteo de los individuos se establecieron 14 parcelas de 10 x 100 m, en siete Departamentos de la Región Oriental del país, y dentro de ellas se demarcaron 280 sub-parcelas de regeneración de 0,25 x 4 m para el conteo de plántulas. Se registraron variables de manejo, clima y suelo. Los análisis estadísticos se realizaron en "Biodiversity R". Se exploraron los datos mediante una matriz de auto-correlaciones, utilizando el coeficiente de Pearson. Se pre-seleccionaron aquellas variables predictoras con un coeficiente < 0,6 entre ellas; y una correlación $\geq 0,3$ con relación a la variable respuesta. De estas se seleccionaron todas aquellas que, mediante una regresión simple, o gráficos de dispersión, mostraron una fuerte correlación con la variable respuesta o que, con correlación débil, tuvieran significancia biológica conocida. Fueron utilizados Modelos Generales Linearizados (binomiales negativos) para evaluar la influencia de las variables en las densidades. La densidad promedio de plántulas en 20 m² fue de 6 individuos. La población de *B. paraguayensis* resultó ser auto-regenerativa. La variabilidad de la densidad en las parcelas dependió de variaciones en las concentraciones de P, Fe, pH, materia orgánica y porcentaje de arena, que explicaron en un 95% la diferencia de densidades de plántulas en los sitios muestreados (Devianza explicada). En las pruebas de regresión simple la cobertura vegetal, uso del suelo y último año de quema, tuvieron influencia, pero en el modelo no resultaron ser estadísticamente significativos. Estos factores deberán ser mejor estudiados. Ninguna variable meteorológica presentó influencia significativa sobre la densidad de plántulas.

Palabras clave: *Butia paraguayensis*, Jata'i, modelos generales linearizados, patrones poblacionales

Seedling density in populations of *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) L.H. Bailey in Paraguay. Partial results of the thesis "Environmental factors that determine the population patterns of *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) LH Bailey (Jata'i) in the Eastern Region of Paraguay", referring to the environmental factors that influence the density of seedlings found therein, are presented in this publication. For this, 14 plots of 10 x 100 m were established in seven Departments of the Eastern Region of the country, and within them 280 regeneration sub-plots 0,25 x 4 m were demarcated for seedling count. Management, climate and soil variables were recorded. Statistical analyses were performed in "Biodiversity R". Data were explored by means of a self-correlation matrix using the Pearson coefficient. Independent variables with a Pearson coefficient <0,6 between each other and a correlation $\geq 0,3$ in relation to the dependent variables were pre-selected. From these, the ones that, showed a strong correlation with the dependent variable through simple regression were selected. General Linearized Models (negative binomials) were used to assess the influence of the variables on densities. The average seedling density in 20 m² was 6 individuals. The *B. paraguayensis* population was found to be self-regenerating. The variability of the density, in the plots depended on variations in the concentrations of P, Fe, pH, organic matter and percentage

Steviana, Vol. 11 (2), 2019 pp. 3 – 40

Original recibido el 30 de mayo de 2019

Aceptado el 30 de diciembre de 2019

of sand, which accounted for 95% of the difference in seedling densities at the sampled sites (Expanded deviance). In the simple regression tests, the vegetation cover, land use and last year of burning had influence, but in the model they were not statistically significant. These factors should be better studied. No meteorological variable had a significant influence on seedling density.

Key words: *Butia paraguayensis*, Jata'i, General Linearized Models, population patterns

INTRODUCCION

Butia paraguayensis (Barb. Rodr.) L.H. Bailey es una palmera de porte mediano que puede llegar a la edad adulta permaneciendo mucho tiempo acaule, o bien desarrollar un tronco de altura máxima muy variable y discutida de 2 a 10m (Deble *et al.*, 2011; Soares, 2015; Lorentzi *et al.*, 2010; Hahn, 1990; Gatti, 1985). Crece de manera aislada o también forma poblaciones más o menos densas, agrupadas, integrando comunidades vegetales caracterizadas por su presencia, denominadas "Jataity". Jata'i es la denominación guaraní de la especie en la región centro y sur de la Región Oriental de Paraguay y "Jata'ity" es el "lugar donde crece el Jata'i".

Butia paraguayensis está ampliamente distribuida en la Región Oriental de Paraguay (de aquí en adelante ROP) (Gauto *et al.*, 2011). Sus poblaciones aparecen en parches de Cerrado entremezclados con el bosque atlántico del Alto Paraná y con el Chaco húmedo (Basualdo & Soria, 2002; Mereles, 2007; Spichiger *et al.*, 1995) también crece en campos limpios altos y en bancos de arena depositados por el río Paraná en los esteros del Ñeembucú. Estos parches son de extensión variable, desde menos de una hectárea en la Reserva Privada Yacyretá, (datos proveídos por estudios inéditos de la Secretaría del Ambiente - SEAM) a unos miles de hectáreas en el Departamento de Ñeembucú (Villalba Palacio & Galeano, 2007). En Ñeembucú la especie forma poblaciones extensas en campos

ganaderos que se expanden de este a oeste, caracterizados por paleo-sedimentos más recientes del río Paraná, con probable edad Holoceno (Gómez Duarte, s. f.) desde el pueblo de Villalbín hasta el pueblo de General Díaz.

Conforme a la propuesta de ecorregiones de la Secretaría del Ambiente (SEAM, 2013), en este estudio se han encontrado poblaciones en las ecorregiones de Selva Central (parcelas P01 a la P07), Amambay (P08), Aquidabán (P09, P10) y Ñeembucú (P11 a la P14). En tanto que, de acuerdo a la evaluación de ecorregiones propuesto por la WWF basado en Olson *et al.* (2001), las ubicaciones de las poblaciones se corresponderían a las ecorregiones Bosque Atlántico Alto Paranaense-BAAPA (P01-P08), Cerrado (P09), Chaco Húmedo (P10, P14), Pastizales de la Mesopotamia (P11-P13).

Aunque las condiciones ambientales de las áreas de ocurrencia de esta especie aparentan cierta homogeneidad, las densidades de individuos en las poblaciones difieren mucho entre sí. Se ha observado también que *B. paraguayensis* es una especie que sufre la presión de incendios en épocas de sequía, del ramoneo y pisoteo del ganado, debido a que su hábitat natural es aprovechado por la ganadería, una de las principales actividades económicas de la ROP ocupando un total de 13 millones de hectáreas de praderas naturales (SEAM, 2016). La especie también podría ser objeto de la extracción de partes o de la planta entera (SEAM, 2015).

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de Butia paraguayensis

Ante estos antecedentes, se planteó la hipótesis de que los factores ambientales inducidos como presencia/ausencia de fuego, presencia/ausencia de ramoneo por el ganado, utilización/extracción de individuos, así como factores abióticos tales como clima, características del suelo (textura, pH y fertilidad) afectan la densidad, estructura poblacional, capacidad regenerativa y el tamaño de los individuos de *B. paraguayensis*.

Esta publicación tiene el fin de presentar los resultados referentes a los factores ambientales que tienen mayor influencia en la capacidad regenerativa de las poblaciones, representada por la densidad de plántulas de cada sitio, en este caso. Para ello, fueron tomados como referencia los estudios realizados en palmeras con mayores similitudes morfológicas (con juveniles y adultos reproductivos con troncos subterráneos). o relación de parentesco. Se consultaron los trabajos que han investigado la estructura poblacional de palmeras como

Attalea princeps Mart. (Hordijk *et al.*, 2018), *Butia yatay* (Mart.) Becc. (Lunazzi, 2009), *Attalea humilis* Mart. ex Spreng. (Souza & Martins, 2004; Souza *et al.*, 2000, 2002), *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick (Rivas & Barilani, 2004), Thompson *et al.* (2009) en *Parajubaea torallyi*, (Mart.) Burret entre otros.

Descripción de las plántulas

Las plántulas de *B. paraguayensis* presentan un pequeño tallo subterráneo rodeado de manera imbricada por las vainas de sus hojas, pocas raíces adventicias y de 2 a 3 hojas contemporáneas enteras, de 0,10 a 1,10 m de largo y 0,5 a 1,5 cm de ancho, con nervaduras paralelas muy marcadas (Figura 1). Las plántulas pueden alcanzar una altura de hasta 50 cm en los ejemplares con hojas más largas.

Área de estudio

El área de distribución natural de *B. paraguayensis* en Paraguay abarca geopo-

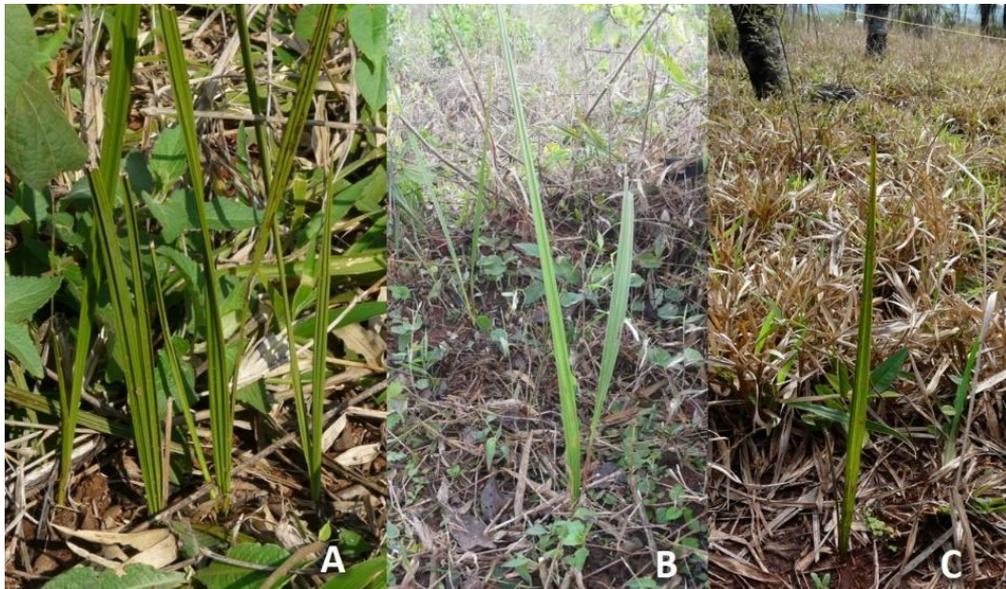


Figura 1. Plántulas de *B. paraguayensis* en las parcelas de muestreo. Departamento de Caaguazú. A y B: parcela P03; C: parcela P04.

líticamente todos los Departamentos de la ROP, excepto el de Caazapá. La extensión de presencia (EOO) para la especie es de 94.646 km² y el área de ocupación (AOO) es de 68.589 km², de acuerdo a un mapa de distribución de la especie, basado en coordenadas de colecta de ejemplares identificados taxonómicamente por especialistas confiables (Gauto *et al.*, 2011)

La ROP representa el 39 % del territorio del país y abarca una extensión de 159.827 km². Presenta un característico relieve de onduladas colinas, que alcanzan elevaciones que varían entre 50 y 850 m.s.n.m (Hanratty & Meditz, 1990).

Caracterizan también a esta región las dos grandes cuencas hidrográficas, las del río Paraguay y Paraná que bañan con sus numerosos afluentes toda la superficie, por lo tanto, sus tierras son aptas para la actividad agrícola – ganadera (Quevedo, 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Definición de sitios de muestreo

La preselección de sitios de muestreo tuvo lugar a partir de colectas botánicas georreferenciadas y publicadas en bases de datos botánicas (Tropicos, 2016; Catálogo de plantas vasculares de flora del cono sur, 2016; Catalogue des herbiers de Genève - CHG, 2016; Flora do Brasil, 2020, en construcción; GBIF, 2016).

Otros criterios que se tuvieron en cuenta fueron: accesibilidad, conocimiento previo de la localidad (a través de consultas con expertos) y proporción de parcelas a ser muestreadas entre las zonas norte (Concepción, San Pedro y Amambay), centro (Canindeyú y Caaguazú) y sur (Misiones y Ñeembucú) del país. Esta zonificación se realizó a los efectos de padronizar las actividades de manejo como el ramoneo, la

Tabla 1. Localización de las poblaciones muestreadas de *Butia paraguayensis* en la Región Oriental del Paraguay. Se indica el número de parcela (PN°), Sitio (nombre de parcela según ciudad, comunidad, barrio, asentamiento, etc.), Localidad (Distrito o Municipio), Dpto. (Departamento), latitud, longitud y altitud.

PN°	Sitio	Localidad	Dpto.	Latitud	Longitud	Altitud msnm
P01	Fracción de “Atalaya de Inmuebles”	Caaguazú	Caaguazú	25°28'2,74" S	55°57'34,75" W	320
P02	Guyraigua	Yhú	Caaguazú	25°17'07" S	55°58'49,9" W	313
P03	Vaquería	Vaquería	Caaguazú	24°59'34,3" S	55°48'54,1" W	315
P04	Zapatini Cué	Vaquería	Caaguazú	25°01'58,7" S	55°50'0,3" W	307
P05	Aguara Ñu (RNBM)	Villa Ygatimi	Canindeyú	24°09'57,6" S	55°15'58,1" W	251
P06	Asent. Indig. “Tuna Poty”	Jasy Cañy	Canindeyú	24°31'27,2" S	55°58'58" W	183
P07	Col. Niño Mártir	Gral. Resquín	San Pedro	23°59'25,9" S	56°30'37,4" W	130
P08	PN CC	P. Juan Caballero	Amambay	22°39'50" S	55°59'17,1" W	285
P09	E. G. Kumaré	San Alfredo	Concepción	22°54'24,3" S	57°23'58,2" W	159
P10	E. G. Pororó Camino a Pto. Ybapovó	San Pedro	San Pedro	24°29'37,5" S	57°14'22,1" W	86
P11	Potrero San Antonio	Santa María	Misiones	26°51'35,2" S	56°54'12,5" W	171
P12	R. Privada Yacyretá	Ayolas	Misiones	27°27'24,2" S	56°48'10,2" W	70
P13	Núcleo 2 Parque Urbano	Ayolas	Misiones	27°23'27,6" S	56°51'16,7" W	84
P14	Compañía Guazú	Loma Gral. Díaz	Ñeembucú	27°10'36,4" S	58°21'13,5" W	57

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis*

quema y la extracción que en cada zona pudieran ser registradas.

Factores como tiempo invertido en el viaje y costos de traslado, así como la confirmación de la presencia de poblaciones redefinieron, finalmente, los sitios de muestreo de las poblaciones de *B. paraguayensis*. (Tabla 1).

Diseño de muestreo

El muestreo fue de tipo conglomerado simple. Se seleccionaron 14 sitios en la ROP (Figura 2). Las campañas de colecta de datos se realizaron en julio y setiembre de 2016. En cada lugar seleccionado se estableció una parcela temporal de 10 x 100 m en la que se establecieron a su vez 20 subparcelas de 4 x 0,25 m (Figura 3), siendo un total 280 subparcelas las que se han estudiado para el inventario de plántulas, tomando el primer punto de cada subparcela de manera aleatoria. La forma de las parcelas y subparcelas fue rectangular con el objeto de incrementar la eficiencia del muestreo debido a la distribución

generalmente agregada de *B. paraguayensis* (Elzinga *et al.*, 2001).

Una vez delimitada la parcela, se señalaron en ella las 20 sub-parcelas de manera aleatoria (Figura 3). Se confeccionó una planilla con 14 juegos de 20 puntos dados por coordenadas de números aleatorios, del 1 a 1000 para la coordenada x (largo de parcela), y del 1 al 100 para la coordenada y (ancho de parcela).

Fueron contabilizadas como plántulas aquellos individuos con 2 a 3 hojas enteras vivas de 0,10 a 1,10 m de largo y 0,5 a 1,5 cm de ancho (Figura 1).

Registro de datos.

Morfología

Para la evaluación de plántulas por parcela se contabilizó la cantidad total de plántulas encontradas en las 20 subparcelas. Se contabilizó el número de hojas enteras (Nhe) y se anotaron largo y ancho de las hojas (Figura 4). Individuos juveniles y adultos fueron también caracterizados, clasificados y contabilizados, y las

Tabla 2. Densidades absolutas (DPL) en 20 m², en 0,1 Ha, y porcentuales de plántulas, y densidades absolutas de juveniles (DJ) y adultos (DA) por parcela en la Región Oriental de Paraguay

PN°	DPL/20m ²	DPL/0,1 Ha	%PI	DJ	DA
P01	6,00	300,00	90,63	9,00	22,00
P02	0,00	0,00	0	0,00	20,00
P03	11,00	550,00	97,35	0,00	15,00
P04	3,00	150,00	72,12	26,00	32,00
P05	0,00	0,00	0	32,00	40,00
P06	0,00	0,00	0	7,00	35,00
P07	1,00	50,00	54,35	1,00	41,00
P08	1,00	50,00	23,15	NA	166,00
P09	0,00	0,00	0	137,00	262,00
P10	3,00	150,00	63,03	38,00	50,00
P11	3,00	50,00	53,76	25,00	18,00
P12	6,00	300,00	67,42	5,00	140,00
P13	32,00	1600,00	95,35	7,00	71,00
P14	12,00	600,00	61,92	227,00	142,00
	5,57	271,43	48,50	39,54	75,29

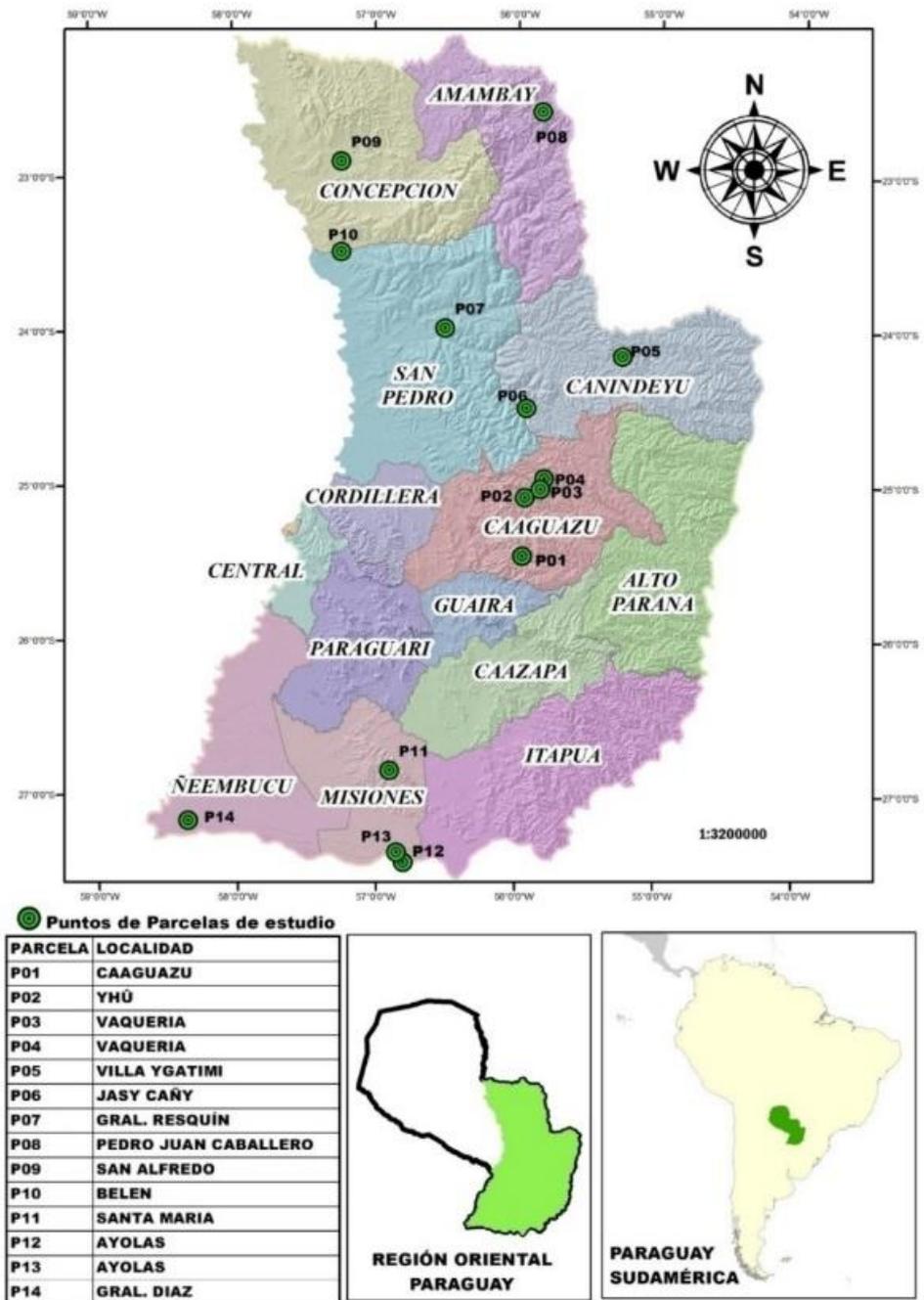


Figura 2: Mapa de distribución de las poblaciones muestreadas de *Butia paraguayensis* en la Región Oriental del Paraguay

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis*

densidades de todas las clases etarias por parcela se agregaron a la tabla de densidades poblacionales (Tabla 2) para poder graficar la curva de supervivencia de cada subpoblación, expresada por parcela (Figura 6) y para la población de la Región Oriental de Paraguay (Figura 7).

La densidad poblacional de plántulas de cada parcela se calculó sumando el número de plántulas contabilizadas en las 20 subparcelas distribuidas en 0,1 Ha (Tabla 2)

Datos de manejo

Estos datos se registraron a campo por observación simple, en una planilla de campo (Figura 4). Se realizaron además encuestas semidirigidas a guardaparques, pobladores, capataces o encargados de la propiedad con las siguientes preguntas: fecha aproximada de la última quema y fre-

cuencia de incendios; extracción de plántulas y utilización de la especie en la zona. Estos y otros datos, como características particulares de cada sitio de muestreo, coordenadas, vías de acceso, estado del tiempo, paisaje, uso del suelo, etc. se anotaron en el cuadernillo de campo.

Quema: INQ (indicio de quema), última quema (UQ), e intensidad de quema (IQ) en la parcela.

La quema fue registrada y evaluada de tres maneras. Rastros de quema se registraron como una variable binaria: indicio de quema (INQ/SÍ/NO) para cada individuo (Figura 4). Este dato se expresó luego en cantidades absolutas y relativas por parcela. Se registró el año de la última quema, como última quema (UQ) para cada parcela. En gabinete la UQ se registró en dos

Tabla 3. Factores ambientales en relación a las densidades de plántulas. PL/20m², densidad en 20 m², %PI., densidad relativa, %INQ, porcentaje de plántulas quemadas, UQ, última quema en la parcela en niveles: intermedio (QI), reciente (QR) y lejana (QL); %INR, porcentaje de plántulas ramoneadas; %INEX, extracción de partes en cualquier edad etaria, en este caso, de hojas de adultos; cobertura de suelo, COB_S en tres niveles: leve (L), media (M) y fuerte (F) traducido a porcentaje de cobertura (%COB_S) y uso (USO/U_R_S: urbano, rural, silvestre) para *B. paraguayensis* por sitios en la Región Oriental de Paraguay.

PN°	PL/20m ²	%PI	%INQ	UQ	UQAño	%INR	%INEX	COB S	%COB S	USO	%USO
P01	6,00	90,63	0,00	QI	2015	100,00	0,00	L	50	U	100
P02	0,00	0	0,00	QI	2014	0,00	0,00	F	100	R	75
P03	11,00	97,35	9,00	QR	2016	9,09	0,00	M	75	U	100
P04	3,00	72,12	66,67	QR	2016	100,00	0,00	F	100	R	75
P05	0,00	0	0,00	QI	2014	0,00	0,00	F	100	S	50
P06	0,00	0	0,00	QR	2016	0,00	47,62	M	75	R	75
P07	1,00	54,35	100,00	QR	2016	0,00	100,00	F	100	R	75
P08	1,00	23,15	0,00	QL	2007	0,00	0,00	M	75	S	50
P09	0,00	0	0,00	QL	NA	0,00	0,00	F	100	R	75
P10	3,00	63,03	0,00	QI	2014	0,00	0,00	L	50	R	75
P11	3,00	53,76	0,00	QL	NA	0,00	0,00	M	75	R	75
P12	6,00	67,42	0,00	QL	2009	44,94	0,00	M	75	S	50
P13	32,00	95,35	0,00	QI	2014	3,13	0,00	L	50	U	100
P14	12,00	61,92	0,00	QR	2016	0,00	0,00	M	75	R	75
		48,50				18,37					

columnas: en la columna UQ_Año se registraron los años, cuando se tuvo información de la encuesta; estos años fueron traducidos como una variable categórica de tres niveles: quema lejana (UQ_QL) años 2007 y 2009, quema intermedia (UQ_QI), años 2014 y 2015; y quema reciente (UQ_QR), año 2016. Se graficaron estos resultados en las Figuras 8 y 9.

La intensidad de quema (IQ) se calculó para cada parcela a partir de los datos de INQ provenientes de juveniles y adultos para los que se registró como una variable categórica de tres niveles: F (fuerte), M (media), L (leve). Todos los datos referentes a quemas se aprecian en la Tabla 3.

Ramoneo, utilización / extracción de plántulas.

El inicio de ramoneo y la utilización/extracción de individuos se registraron por individuo, como variables binarias: INR/SI/NO, INEXT/SI/NO. Los datos de ramoneo se asentaron en la Tabla 3.

La cobertura del suelo

La cobertura del suelo fue introducida al diseño de muestreo a posteriori. En los sitios muestreados, el suelo siempre estuvo cubierto de vegetación herbácea, conformada por gramíneas, hierbas graminoides y sufrutices, además de la gramínea forrajera implantada del género *Brachiaria*

(Trin.) Griseb., preferentemente en los sitios de uso rural.

Esta última característica indujo a considerar la cobertura como un posible factor limitante para el desarrollo de las plántulas, por tanto, se consideraron tres aspectos para la clasificación de sitios de acuerdo a su cobertura vegetal: origen (natural o exótico/implantado); cobertura horizontal y la altura. Estos datos fueron estimados, pues no se realizaron mediciones.

La altura del estrato varió entre 0,30 a 1,20 m y el origen, nativo, exótico o una mezcla de ambos.

Estas variables se resumieron en un factor categórico de 3 niveles (Figura 4). Se determinó como cobertura leve (CL) de los suelos cuando éstos presentaron cubierta parcial de vegetación herbácea nativa de gramíneas y sufrutices hasta 40 cm de altura. Se determinó como cobertura media (CM), de los suelos, cuando éstos se hallaron parcialmente cubiertos de vegetación herbácea nativa de gramíneas y sufrutices hasta 80 cm de altura. Se determinó como cobertura fuerte (CF) de los suelos, cuando éstos presentaron cubierta total con césped exótico o, de pastos naturales y sufrutices de hasta 1,20 de altura. A estos niveles se le asignaron valores de porcentajes de 50, 75 y 100%, respectivamente, para poder graficarlos y correlacionarlos con la abundancia de plántulas (Figura 10). Para in-

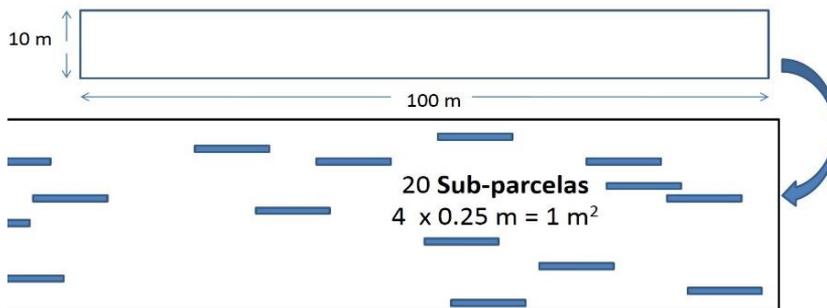


Figura 3: Diseño de parcelas y subparcelas de regeneración (mostradas en un trozo de la parcela).

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis*

cluir los datos de cobertura al modelo de regresión se introdujeron simplemente los identificadores de niveles. Los datos referentes a la cobertura de suelo se asentaron en la Tabla 3 y se graficaron en la Figura 10.

El uso del suelo

El uso del suelo fue introducido al diseño de muestreo a posteriori, como un factor categórico de 3 niveles: (S) para silvestre, (R) para rural y (U) para urbano (Figura 4).

Se consideraron de uso silvestre los parques nacionales u otras unidades de conservación, de acuerdo a su zonificación. Todos los puntos de muestreo en este tipo de uso de suelo se realizaron en zonas de conservación estricta de las unidades, a saber: parcela P05, Reserva de Bosque Natural Mbaracayu (RNBM); parcela P08; el Parque Nacional Cerro Corá (PNCC); y parcela P12, la Reserva Privada Isla Yacaretá.

De uso rural se consideraron todos los establecimientos ganaderos y campos comunales. Fueron considerados todos los sitios alejados de concentraciones humanas, con presencia de ganado, permanente u ocasionalmente, como P02, P04, P06, P07, P09, P10, P11, P14.

Lugares de uso urbano se designaron aquellos que estaban expuestos a concentraciones humanas, el paso de personas, vehículos, la limpieza de la cobertura vegetal herbácea con maquinaria o ganado, disposición de basura. Tales sitios estuvieron representados por la P01 (urbanización a siete km del centro de la ciudad de Caaguazú), la P03 (predio de instalación de antenas de comunicación, en la ciudad de Vaquería); y la P13 (Parque Urbano del Núcleo 2, en la ciudad de Ayolas). Los datos de uso están representados en la Tabla 3.

Del mismo modo que se procedió con los datos de cobertura, a los niveles del factor uso se le asignaron valores de porcentajes de 50, 75 y 100%, respectivamente, para poder correlacionarlos con la abundancia de plántulas (Figura 11). Para incluir los datos de uso al modelo de regresión se introdujeron simplemente los identificadores de niveles.

Registro de variables del suelo: materia orgánica, fertilidad, acidez, textura

En cada sitio se tomaron muestras de suelo conforme al protocolo propuesto por los laboratorios del Área de Suelos y Ordenamiento Territorial de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Na-

PARCELA N°: USO S/R/U COB F/M/L INEX SÍ/NO UQ.....

N° Sp	N°I	At (m)	Nhe	INQ SI/NO	INR SI/NO

Figura 4. Planilla de campo para subparcelas de regeneración. Densidad y manejo. Encabezado: Datos de la parcela: USO, uso del suelo: S silvestre, R rural, U urbano; COB, cobertura del suelo: F fuerte, M medio, L leve; INEX, indicio de extracción (SI/NO); UQ, año de última quema. Grilla: N° Sp: número de subparcela, N° I.: número de individuo, At (m): altura total de la plántula en metros, Nhe: número de hojas enteras INQ: indicios de quema (SI/NO), INR: indicio de ramoneo (SI/NO).

Tabla 4. Influencia de factores edáficos en la densidad de plántulas por sitios en la Región Oriental de Paraguay. N.º P, número de parcela; Pl/20m², densidad de plántulas; pH, acidez del suelo; MO, materia orgánica; Ca⁺², Calcio; Mg⁺², Magnesio; K⁺, Potasio; Na⁺ Sodio; Al⁺³H⁺, acidez intercambiable; Cu, Cobre; Zn, Zinc; Fe, Hierro; Mn, Manganeseo; Aren, porcentaje de arena. Las cifras de la última fila indican valores promedios de las concentraciones.

Nº P	Pl/20m ²	Ph	MO	P	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³ H ⁺	Cu	Zn	Fe	Mn	Aren
P01	6,00	5,70	0,43	1,71	0,19	0,12	0,07	0,00	0,00	0,24	0,24	22,63	8,31	92,00
P02	0,00	6,00	1,33	3,33	0,38	0,48	0,11	0,00	0,00	1,96	0,92	58,60	38,94	90,00
P03	11,00	6,00	1,36	4,34	1,53	0,62	0,15	0,00	0,00	0,49	1,39	34,30	83,45	86,00
P04	3,00	5,70	1,46	3,23	0,57	0,39	0,15	0,00	0,00	0,49	1,15	54,31	37,09	88,00
P05	0,00	6,20	0,72	2,42	0,77	0,62	0,11	0,00	0,00	0,25	0,23	61,45	17,62	90,00
P06	0,00	5,60	0,94	1,61	0,19	0,16	0,09	0,00	0,00	0,25	1,85	50,02	78,82	90,00
P07	1,00	5,00	0,47	3,06	0,18	0,05	0,04	0,00	0,63	0,47	0,24	56,57	5,33	89,00
P08	1,00	4,70	1,11	0,77	0,64	0,27	0,04	0,00	1,25	0,47	0,47	55,19	36,40	83,00
P09	0,00	5,80	0,63	1,86	0,82	0,32	0,09	0,00	0,00	0,95	0,47	55,19	37,29	81,00
P10	3,00	4,70	0,69	1,64	0,37	0,09	0,04	0,00	1,25	0,47	0,47	56,57	15,09	89,00
P11	3,00	5,10	0,97	1,43	0,90	0,90	0,09	0,01	0,63	1,96	0,46	24,30	31,53	81,00
P12	6,00	5,70	0,58	2,15	0,18	0,12	0,04	0,01	0,00	0,49	1,39	13,58	15,76	89,00
P13	32,00	5,80	0,65	5,01	0,18	0,16	0,04	0,01	0,00	0,49	1,39	17,15	24,11	89,00
P14	12,00	5,80	0,32	4,02	0,18	0,18	0,04	0,01	0,00	0,25	0,23	12,86	14,84	91,00
	5,57	5,56	0,83	2,61								40,91		87,71

cional de Asunción (ASOT/FCA-UNA) (Rodríguez & Rodríguez, 2002).

Las determinaciones químicas fueron realizadas en el laboratorio del Área de Suelos y Ordenamiento Territorial de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción (ASOT/FCA/UNA) conforme Rodríguez & Rodríguez (2002), en la que se provee la tabla de interpretación (Figura 5) con los valores de referencia convencionales de acidez (pH), materia orgánica (MO) y macro y micronutrientes del suelo. Los resultados de las mediciones se presentan en la Tabla 4. La determinación de la textura se realizó por el método de Bouyoucos (Medina *et al.*, 2007).

El protocolo no incluye la determinación de contenido de N debido a los altos costes, por lo que para este trabajo no se ha considerado esta variable.

Registro de variables meteorológicas

También fueron compilados datos meteorológicos de un servidor meteorológico mundial vinculado al programa libre y gratuito Google Earth (Harris *et al.*, 2014), donde se accedió a bases de datos por cuadrículas de 0, 5°, para Precipitación media mensual y para Temperaturas medias mensuales, en el intervalo comprendido entre 1901 a 2015.

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis*

NIVEL	pH	mg/kg				cmol /kg			ppm			
		MO	P	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al+H ⁺	Cu	Zn	Fe	Mn
MUY BAJO	<5,5 Acido								<0,1	<0,6	<2,5	<0,8
BAJO	5,5 - 6,4 LAc	<1,2	<12	<2,51	<0,4	<0,12	<1,5	<0,4	0,1 - 0,2	0,6 - 0,8	2,5 - 4,5	0,8 - 1,2
MEDIO	6,5 - 7,4 Neu	1,3 - 2,8	13 - 30	2,51 - 6,0	0,41 - 0,8	0,13 - 0,17	1,51 - 3,0	0,41 - 0,9		0,8 - 1,2	4,5 - 8,0	1,2 - 1,6
ALTO	>7,4 Alcalin	>2,9	>30	>6,0	>0,8	>0,17	>3,0	>0,9	>0,2	>1,2	>8,0	>1,6

Figura 5. Valores estándar de referencia para los componentes de acidez, materia orgánica y nutrientes del suelo. pH (Lac: levemente ácido, Neu: neutro, Alcalin: alcalino); materia orgánica (MO); macronutrientes, Fósforo (P), Calcio (Ca⁺²), Magnesio (Mg⁺²), Potasio (K⁺), Sodio (Na⁺), acidez intercambiable (Al⁺³H⁺); micronutrientes, Cobre (Cu), Zinc (Zn), Hierro (Fe), manganeso (Mn).

A partir de estos datos se calcularon la precipitación mensual media, las mínimas y las máximas (XPrM, XPrM_mín, XPrM_máx respectivamente); la precipitación anual, las mínimas y las máximas (XPRA, XPRAmín, XPRAmáx); las temperaturas medias anuales, las medias mínimas y las medias máximas (XT°A, XT°mín, XT°máx).

Por último, se calculó la Evapotranspiración Potencial según el modelo de Hargreaves & Samani (H-S) (Samani, 2000). Los datos de evapotranspiración (ETP) y de la precipitación se relacionaron en el cociente P/ETP que representa el índice de aridez, la cual está clasificada de la siguiente manera (Gómez & Monterroso, 2012).

Relación P/ETP Categorías del Índice de Aridez

0,00 – 0,20 Áridos

0,21 – 0,50 Semiáridos

0,51 – 0,65 Subhúmedos secos

> 0,65 Subhúmedos húmedos y húmedos

Un resumen de los datos registrados se presenta en la Tabla 5.

Análisis de datos

Para todos los análisis de datos se utilizó el programa estadístico “R” (Fox, 2005), herramienta gratuita y de libre acceso al público, a través la plataforma

web del “Proyecto R” (<http://www.r-project.org>). Se utilizó el paquete ‘vegan’ a través de la interfaz visual GUI de BiodiversityR (Kindt & Coe, 2005).

Exploración de los datos: Matrices de auto-correlación

Todos los datos ambientales tomados de referencias publicadas y las registradas a campo se recogieron en una mega tabla Excel conteniendo en sus filas las parcelas y en sus columnas las variables. La variable dependiente o respuesta fue la densidad de plántulas. Las variables independientes fueron los indicios de quema, de ramoneo y extracción, fechas de la última quema, intensidad de quema, datos de suelo (pH, MO, P, Ca⁺², Mg⁺², K⁺, Na⁺, Al⁺³H⁺, Cu, Zn, Fe, Mn) y de clima (precipitación, temperatura y evapotranspiración potencial).

Con el Programa R se elaboró una matriz de correlaciones de dichas variables (Anexo 1) para conocer la correlación entre ellas y obtener dos tipos de información. Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para seleccionar las variables de dos maneras. Por un lado, se preseleccionaron variables independientes con un coeficiente de Pearson menor de 0,6 entre sí para evitar la colinealidad de variables. En segundo lugar, de las variables preseleccionadas, se seleccionaron aquellas que mostraran una alta correlación con la variable -

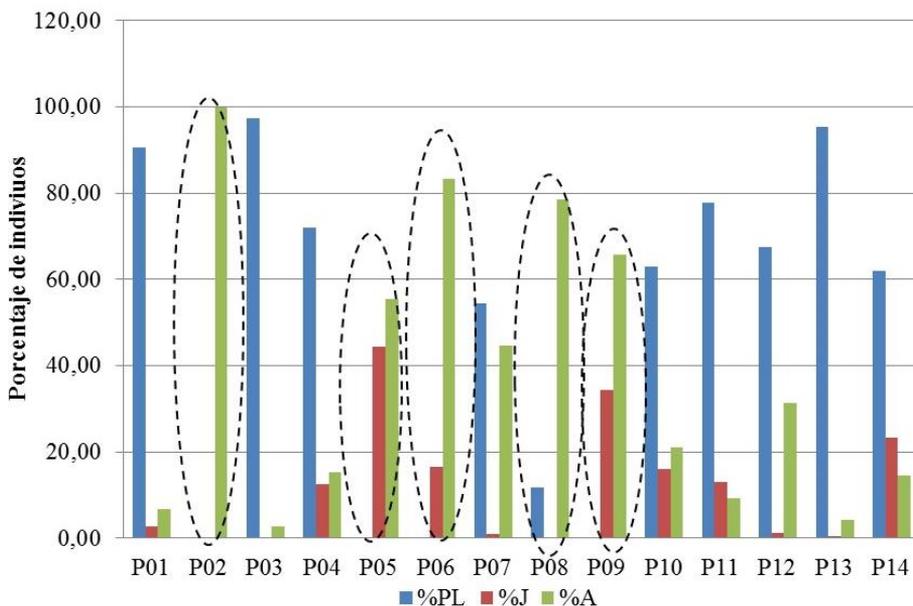


Figura 6. Estructura poblacional de *B. paraguayensis* en las poblaciones estudiadas en la Región Oriental de Paraguay. Las densidades poblaciones por franjas etarias están dadas en porcentaje (%PL, %J; %A). Las elipses de trazo discontinuo indican las poblaciones con algún tipo de anomalía en su estructura.

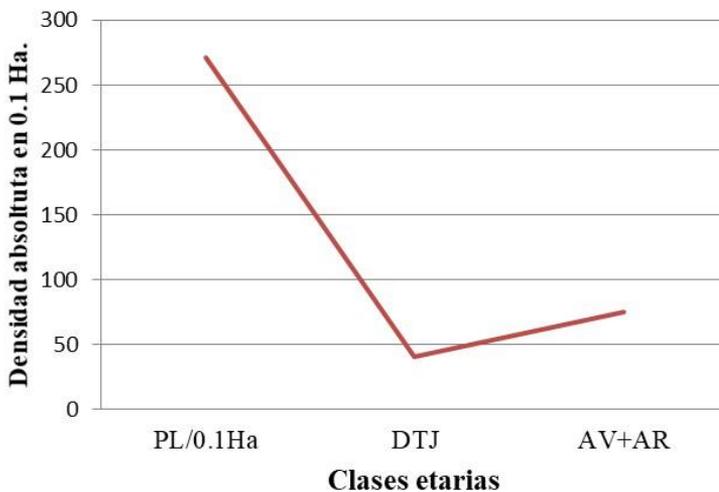


Figura 7. Curva de supervivencia de la especie en la ROP. La curva fue graficada en base al promedio de las densidades absolutas de cada clase etaria: PL/0.1 Ha (densidad de plántulas en 0.1 hectáreas), DTJ (densidad total de juveniles), AV+AR (densidad de adultos vegetativos y adultos reproductivos). Obsérvese la característica forma de J invertida de la curva que indica una población autoregenerativa.

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis*

Tabla 5. Variables meteorológicas de los sitios muestreados en la ROP. N°P, número de parcela; PI, densidad de plántulas en los sitios; XPrM, media de la precipitación Mensual del año 2015; XPrA, media de la precipitación anual del año 2015; XT°C, media de la temperatura anual; XT°C_mín, media mínima de la temperatura anual; XT°C_máx, media máxima de la temperatura anual.

N°P	PI	XPrM	XPrA	XT°A	XT°C min	XT°C max	ETP	P/ETP
P01	300	132,46	1589,46	21,56	11,20	28,70	1757,07	0,90
P02	0	132,46	1589,46	21,56	11,20	28,70	1757,07	0,90
P03	550	130,00	1564,99	21,81	11,60	28,50	1737,69	0,90
P04	150	132,46	1589,46	21,56	11,20	28,70	1757,07	0,90
P05	0	130,00	1560,70	21,68	12,30	27,70	1675,55	0,93
P06	0	130,00	1564,99	21,81	11,60	28,50	1761,22	0,89
P07	50	116,37	1395,79	23,27	13,00	29,90	1826,13	0,76
P08	50	125,23	1502,88	23,41	14,30	28,80	1720,72	0,87
P09	0	115,74	1388,89	24,24	14,50	30,50	1818,54	0,76
P10	150	113,62	1363,43	23,84	13,50	30,50	1856,67	0,73
P11	50	133,59	1600,77	21,99	11,50	29,80	1788,51	0,89
P12	300	137,44	1647,66	22,18	12,00	30,00	1781,94	0,92
P13	1600	137,44	1647,66	22,18	12,00	30,00	1781,94	0,92
P14	600	105,35	1263,94	21,70	10,30	30,30	1856,06	0,68

respuesta y las que tuvieran una significancia biológica conocida y que mostraron una correlación de Pearson cercana o mayor a 0,2 respecto a la variable dependiente. Estas variables se seleccionaron finalmente como predictores. Se utilizó la correlación de Pearson porque es independiente de la escala de medida de las variables, lo que fue importante para este análisis porque las escalas a las que fueron medidos los datos fueron diferentes.

Exploración de datos: Análisis de regresión simple y diagramas de dispersión.

Un segundo sondeo de datos fue realizar un análisis de regresión simple entre variable de respuesta y predictor y construir diagramas de dispersión con una sola variable explicativa (Anexo 2), para

verificar la dependencia entre ambas variables.

Análisis de regresión múltiple. Modelos lineales generalizados (GLM)

Se realizó un análisis de regresión múltiple para ver cómo variaba la densidad de plántulas, en las parcelas, en relación a la variación de las variables explicativas seleccionadas. En base a las características de los datos, se aplicó un análisis GLM o de Modelos Lineales Generalizados, que está dado por la ecuación:

$$\gamma = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \epsilon$$

Donde,

- γ : es la variable de respuesta que se desea predecir

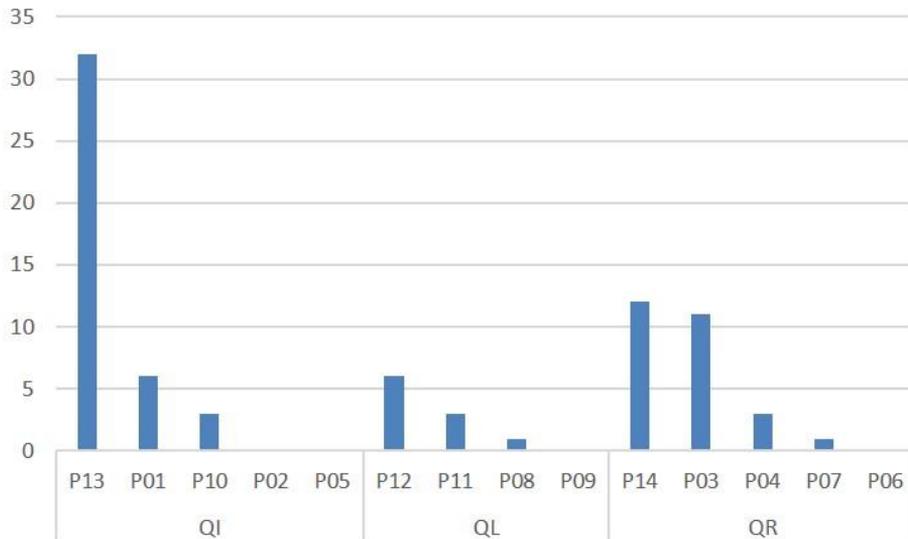


Figura 8. Efectos del factor de tiempo “Última Quema”. Densidades agrupadas por niveles y por parcelas en número decreciente: QI (quema intermedia, años 2014 y 2015), QL (años 2007, 2009 y NA), QR (quema reciente, año 2016).

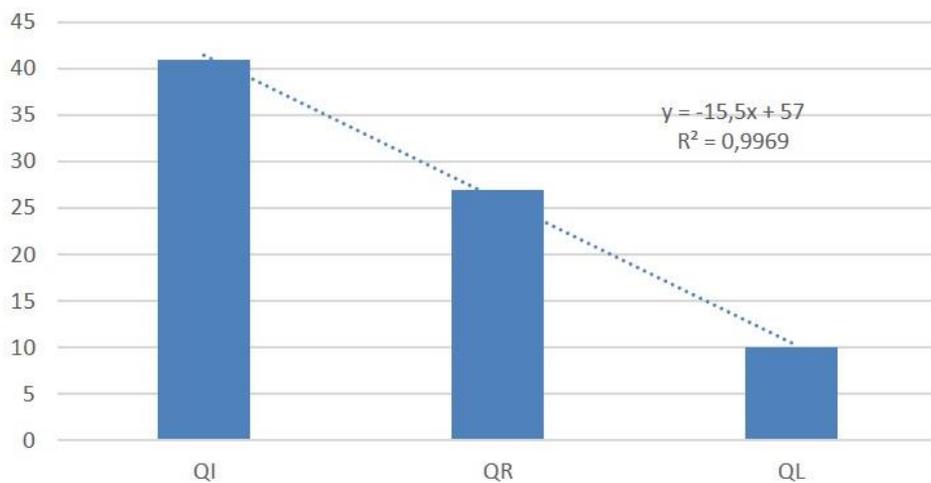


Figura 9. Densidades absolutas de plántulas agrupadas por niveles del factor tiempo de “Última Quema” (UQ). QI, quema intermedia (años 2014 y 2015), QR quema reciente (año 2016), QL, quema lejana (años 2007, 2009, NA)

- $\beta_0, \beta_1, \beta_2 \dots, \beta_k$ son constantes desconocidas
- x_1, x_2, \dots, x_k son variables predictivas independientes que se miden sin error
- ϵ es el error aleatorio que permite a cada respuesta desviarse del valor promedio de y por la cantidad ϵ . Se debe suponer que los valores de ϵ cumplen con los siguientes requisitos: (1) son independientes, (2) tienen una media de 0 y una varianza común σ^2 para cualquier conjunto x_1, x_2, \dots, x_k y (3) tienen una distribución normal (Mendenhall *et al.*, 2008).

La distribución de *B. paraguayensis* es agregada, por tanto, se seleccionó el modelo binomial negativo porque modela mejor las abundancias cuando la dispersión es mayor a 1, o cuando los individuos de una población tienen distribución agrupada y no aleatoria. El modelo binomial negativo es un modelo con un parámetro más que el modelo de Poisson, el parámetro θ o k . Este parámetro modela la agrupación en los datos, que van de cero a infinito. Los valores de θ cercanos a cero indican aglutinación, mientras que los valores más grandes indican una distribución que es más aleatoria. (Kindt & Coe, 2005).

Selección de predictores para generar el mejor Modelo

Los Modelos Lineales Múltiples permiten introducir muchos predictores, y cada predictor puede contribuir a explicar una parte de la variabilidad observada en la variable respuesta. Para conocer la variabilidad que explica cada predictor introducido en el modelo se utiliza un test de ANOVA, que es el método que analiza la varianza de dos o más muestras. Para este

análisis el programa introduce el cálculo del estadístico F o test de Fisher. Si éste no resulta significativo no se puede aceptar el modelo, ya que no puede explicar la varianza mejor de lo esperado al azar (Amat Rodrigo, 2016a).

Para la selección del mejor modelo con múltiples variables involucradas se optó por un modelo de regresión múltiple con selección de variables “paso a paso” o “stepwise”, que emplea criterios matemáticos para indicar la contribución significativa de los predictores y en qué orden se han de introducir. El método presenta tres estrategias, “hacia adelante” o “forward”, donde el modelo inicial no contiene ningún predictor; “hacia atrás” o “backward”, donde el modelo se inicia con todas las variables incluidas como predictores y se va eliminando cada variable, una a una, y si se mejora el modelo, queda excluida. Este método permite evaluar cada variable en presencia de las otras; el doble o mixto, donde se combinan las dos estrategias mencionadas.

Se construyó así un modelo con todas las variables independientes seleccionadas como predictores, y mediante una ANOVA tipo I se fue eliminando cada variable que no haya contribuido a la variabilidad (p -valor $>0,05$), de forma progresiva y secuencial. El resultado de la selección final de variables se muestra en la Tabla 6, donde en las filas aparecen el intercepto (intercept) y las variables P, Fe, pH, MO y (porcentaje de) Arena. En la primera columna (Estimate) se observan los valores estimados de estas variables, donde el signo indica la influencia positiva o negativa sobre la variable respuesta. La segunda columna (St. Error) muestra el error estándar de cada estimación. La tercera columna (z value) muestra el valor del estadístico z,

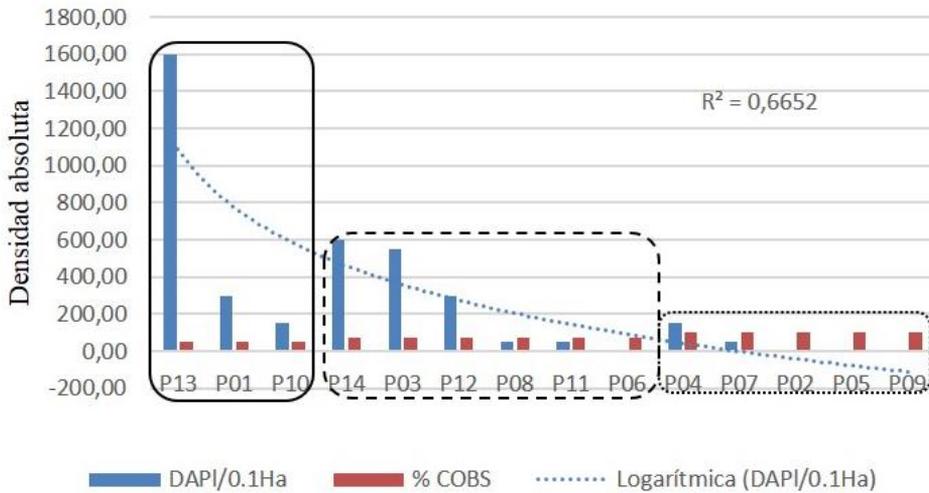


Figura 10. Porcentaje de cobertura del suelo (%COBS) en relación con las densidades absolutas de plántulas (PL), en la ROP. Cobertura de 50% (línea continua), cobertura del 75% (línea discontinua), cobertura del 50% (línea de puntos). Curva de puntos azul: curva logarítmica con valor del coeficiente de determinación R^2 igual a 0,6652.

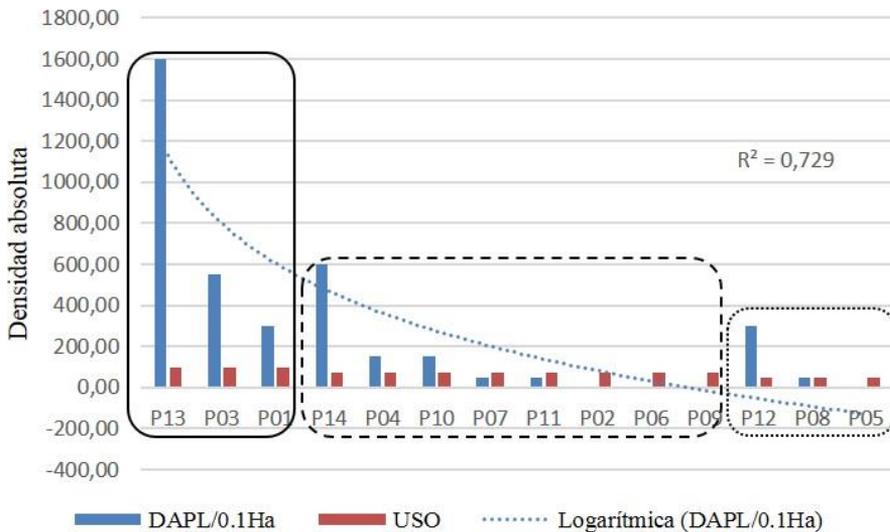


Figura 11. Uso del suelo en relación con las densidades absolutas de plántulas de *B. paraguayensis* por sitio en la ROP. Uso urbano, 100% (línea continua), uso rural, 75% (línea discontinua), uso silvestre, 50% (línea de puntos). Curva de puntos azul: curva logarítmica con valor del coeficiente de determinación R^2 igual a 0,729.

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de Butia paraguayensis

Tabla 6. Influencia del P, Fe, pH, MO (materia orgánica) y arena en la abundancia de plántulas. Coeficientes. (Interc: Intercepción).

	Estimate	Std. Error	z value	Pr (> z)
(Intercepto)	-14,2904	9,7438	-1,467	0,142479
P	0,6867	0,1207	5,688	1,28e-08 ***
Fe	-0,1280	0,0379	-3,376	0,000735 ***
pH	-4,2280	1,5145	-2,792	0,005243 **
MO	4,8342	1,9410	2,491	0,012756 *
% Arena	0,4258	0,1845	2,307	0,021042 *

Valores de significancia: 0 **** 0,001 *** 0,01 ** 0,05 * 0,1 ' ' 1

que describe la posición de una observación x relativa a la media en unidades de α desviación estándar. Si el valor de Z es negativo, indica que la observación está por debajo de la media; si es positivo, indica que la observación se encuentra por encima del valor de la media. La cuarta columna, Pr(>|z|), indica la significancia estadística de esos valores. Para este estudio se consideró una significancia $\geq 0,05$.

Evaluación del modelo

También se tuvo en cuenta la cantidad de varianza explicada por el modelo. Esto en GLM se conoce como devianza D2. La devianza da una idea de la variabilidad de los datos. La diferencia entre varianza y devianza está relacionada con la forma de obtener estos datos. La varianza se obtiene por el método de los mínimos cuadrados, mientras que la devianza por el método estadístico de la máxima probabilidad. Por lo demás, son términos análogos.

Para obtener una medida de la variabilidad explicada por el modelo, se debe comparar la devianza del modelo nulo (Null deviance) con la devianza residual (Residual deviance), esta es una medida de cuánto de la variabilidad de la variable respuesta es explicada por el modelo, o lo

que es lo mismo:

$$D2 = \frac{\text{Devianza modelo nulo} - \text{Devianza residual}}{\text{Devianza modelo nulo}} \times 100$$

(Cayuela, 2015)

Este cálculo aparece al principio de la llamada o “Call” (en R), así como el valor global del AIC del modelo. Aparte de este dato global, se calculó la devianza para cada variable predictor con un test de ANOVA tipo I, que utiliza el estadístico F para validación de los predictores. La Tabla 7 muestra los resultados, donde las filas contienen el modelo nulo (Null), y los predictores. La columna Df indica los grados de libertad, donde cada variable indica 1 grado de libertad. La columna Deviance indica la cantidad de devianza explicada por la variable sobre el total. La columna Resid. indica los residuos (diferencia entre los valores observados y esperados). La columna DfResid. es el tamaño de la muestra menos el número de parámetros estimados, indica los grados de libertad residuales. La columna Dev F muestra la Devianza del modelo completo; y la columna Pr (>F) muestra la significancia de los valores del estadístico F.

Determinación de la calidad del modelo. Criterio de Información de Akaike. (Tabla 8)

Por último, se utilizó el Criterio de Información de Akaike (AIC) para comparar los modelos entre sí, y decidir, finalmente, qué modelo representaría mejor la relación de dependencia entre la abundancia y las variables predictoras. La Tabla 8 muestra los resultados, donde la primera fila contiene, en la columna Deviance la cantidad de devianza no explicada y en la columna AIC, el valor del AIC del modelo completo. Las demás filas contienen los predictores. La columna Deviance indica la cantidad de devianza. La columna AIC, los valores del modelo reducido. La columna F value contiene los valores del estadístico F y la columna $Pr(>F)$ la significancia estadística del valor de F .

El AIC es un criterio fiable en la selección del modelo más parsimonioso, al ponderar positivamente la cantidad de desviación no explicada por el modelo (deviance) y el número de variables utilizadas.

Su idea clave es la de penalizar un exceso de parámetros ajustados. Por lo tanto, el modelo con menor AIC es el que se selecciona entre varios modelos posibles porque es el que menos deja por explicar la variabilidad de los datos, con el menor número de variables explicativas. Un modelo con un AIC más bajo tiene una mejor combinación de simplicidad y desviación explicada, siempre que esté de acuerdo con la forma en que la AIC evalúa la simplicidad y la desviación explicada (Kindt & Coe, 2005).

Cuando el modelo reducido presentaba un AIC menor al modelo completo, se eliminaba la variable que mayor reducción producía en el modelo y se repetía el proceso hasta que se obtenía el modelo más parsimonioso.

Es importante acotar que cuando los valores de AIC entre modelos que 'com-

piteen' entre sí es menor a 2, se consideran que son igual de buenos. Cuando la diferencia es mayor a 2 unidades, se considera que uno es claramente mejor que otro.

"No es el tamaño absoluto del valor de AIC, son los valores relativos sobre el conjunto de modelos considerados, y particularmente las diferencias entre los valores de AIC, los que son importantes" (Burnham & Anderson, 1998; Quinn & Keough, 2002).

Entre varios modelos ajustados a los mismos datos y que 'compiten' entre sí, el modelo con AIC más bajo es el de mejor ajuste. Este valor se interpretaría como la cantidad de varianza no explicada por las variables ambientales (o cantidad de ruido) penalizada por el número de parámetros con el fin de seleccionar el modelo más simple (Burnham & Anderson, 1998)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Densidades absoluta y relativa de plántulas

La Tabla 2 muestra un apretado resumen de los registros de densidades absolutas y relativas de plántulas en los sitios muestreados, y de las densidades de juveniles y adultos por parcela.

Las segunda y tercera columnas de la tabla indican las densidades absolutas de plántulas en 20 m², que representa lo contabilizado, y valores extrapolados a 0,1 hectáreas. En 10 de las 14 poblaciones el rango de individuos en estado de plántula fue de 1 a 32, siendo en P03 (Caaguazú), P13 (Misiones) y P14 (Ñeembucú) donde se contabilizaron el mayor número de plántulas (11, 32 y 12, respectivamente). No se encontró ningún individuo en P02 (Caaguazú), P05 y P06 (Canindeyú) y P09 (Concepción).

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis*

Tabla 7. Análisis de la Devianza con test de ANOVA tipo I

	Df	Deviance	Resid.	DfResid.	Dev F	Pr (>F)
NULL			13	129,010		
P	1	81,451	12	47,560	81,4507	<2,2e-16 ***
Fe	1	27,666	11	19,893	27,6663	1,442e-07 ***
pH	1	2,610	10	17,283	2,6105	0,106159
MO	1	3,133	9	14,150	3,1326	0,076743
ARENA	1	7,064	8	7,087	7,0637	0,007866 **

Valores de significancia: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

La media de plántulas en 20 m² ha sido aproximadamente de 6 individuos (5,57), el error estándar de 2,29 y la desviación estándar de 8,57.

La cuarta columna muestra la abundancia relativa de plántulas en las poblaciones con respecto a las demás clases etarias. Puede observarse que en nueve parcelas (64% de los sitios) la abundancia relativa de plántulas superó el 50%. Sólo cinco parcelas (P02, P05, P06, P08 y P09) no presentaron este patrón.

Esta relatividad se puede analizar mejor en el gráfico de barras (Figura 6), donde se aprecian las curvas de supervivencia, dibujadas por los valores de densidad de cada clase etaria. La mayoría de los sitios presenta lo que se conoce en ecología como una curva J invertida. Los sitios envueltos en elipses de trazo discontinuo presentan un patrón diferente, la curva J derecha.

El análisis de la proporción entre categorías de edad en las diferentes parcelas fue relevante para interpretar la viabilidad biológica y los niveles de regeneración de la especie en las distintas poblaciones. Peters (1996) describió las tendencias de la estructura poblacional en bosques tropicales, que pueden ajustarse a tres tipos de curvas. Las poblaciones de las parcelas estudiadas en la ROP se ajustaron a los tipos de curva I y III.

El análisis de la población es una herramienta extremadamente útil para orientar actividades de manejo de especies arbóreas y, quizás lo más importante, para evaluar el impacto de la extracción de recursos. Estas tres curvas, al encontrarse muy relacionadas con el estado de regeneración de las poblaciones, pueden variar frente a cambios en las condiciones ambientales; de manera que se pueda pasar de curva tipo I al III o al II (Peters, 1996).

La gran producción de plántulas (aun de simientes) y disminución de individuos a medida que van avanzando en edad fueron constatadas también en otras poblaciones de palmeras tanto de pastizales como de bosque (Lozada & Moraes, 2013; González *et al.*, 2012; Lunazi, 2009; Lorenzi, 2006; Barilani, 2002).

La curva tipo I (Figura 6: Sitios P01, P03, P04, P07, P10, P11, P12, P13 y P14) muestra que a medida que los individuos van adquiriendo mayor tamaño, disminuyen su densidad; esta es una curva en forma de “J invertida” y es característica de especies con niveles constantes de regeneración o autoregenerativas. La curva III representa a especies con niveles de regeneración limitados; tal fue el caso de los individuos de los sitios P02, P05, P06, P08 y P09, en donde pudo haber existido alteración de las plantas en sus estadios de plántulas o juve-

niles.

La Figura 7 representa los valores medios para plántulas y las demás clases etarias para toda la región, tomando los sitios como subpoblaciones de una población. Se observa la curva de supervivencia resultante es una curva tipo I, J invertida (Peters, 1996).

Factor de manejo: quema

La Tabla 3 muestra resultados de datos de quema. En la columna IQ, las plántulas presentaron indicios de quema sólo en tres parcelas: en Caaguazú, (P03, con 9% y P04 con 67 %) y en San Pedro (P07, con un 100%). La media de porcentajes de quema fue de 12,55%.

Los incendios pueden tener consecuencias funestas para la regeneración de una población vegetal. Balch *et al.* (2013) comprobaron que incendios repetidos en los bosques aumentan la mortalidad de individuos y declinan la regeneración, la riqueza de especies y la diversidad de especies con tallos menores de 1 cm de diámetro. Notaron la capacidad de resiliencia de la vegetación después de un único evento de quema, pero hallaron que repetidas quemas inhibieron substancialmente la regeneración de especies forestales, especialmente la fase de reclutamiento. Souza *et al.* (2000) encontraron que la intensidad del fuego parece ser determinante en la supervivencia o la mortandad de juveniles y plantulas de *Attalea humilis* Mart. Ex Spreng. en fragmentos de bosque más fuertemente afectados por el fuego, pues hallaron una reducción de individuos en etapas de crecimiento (plántulas y juveniles) después del fuego. Los autores también consideraron que es poco probable que las plantas jóvenes puedan sobrevivir al fuego debido a su sistema subterráneo no está aún

desarrollado. Por lo tanto, la persistencia plantulas y juveniles en las poblaciones estudiadas depende de la emergencia de las plántulas en sectores más cerrados y protegidos de los fragmentos de bosque. Otros autores, como Silva (1994), consideran el aspecto positivo de las quemas, mencionando que el fuego elimina la vegetación invasora y aumenta la reserva adicional de nutrientes, por medio de la carbonización de la materia orgánica, nutriendo a las palmeras adultas y facilitando la producción y diseminación de plantas nuevas. El fuego también destruye el exo- y mesocarpo, liberando la semilla, iniciándose el proceso germinativo. Coutinho (1982) estudió los efectos del fuego en el cerrado brasileiro en el reciclaje de los nutrientes minerales, encontró que luego de un incendio la materia orgánica es rápidamente mineralizada y el ciclo de nutrientes es acelerado.

Aunque los incendios no supusieron una amenaza importante para las plántulas de *B. paraguayensis* en los sitios estudiados, ya que pudieron sobrevivirlos, deberían poder ser manejados con un criterio científico (Pereira Júnior *et al.*, 2014; Balch *et al.*, 2013; Souza *et al.*, 2002; Silva, 1994).

En la columna UQ de la Tabla 3 se observan los niveles del factor Última Quema (UQ), de los que UQ_QR y UQ_QI presentan los mayores porcentajes en densidad de plántulas. Con estos datos se construyeron dos gráficos, el primero (Figura 8) muestra las densidades de plántulas por parcelas, agrupadas según el nivel del factor.

Se puede apreciar que parcelas que presentaron mayores densidades de plántulas están en el nivel de quema intermedia (UQ_QI), entre uno y dos años antes de conteo. Esta observación tiene mucha lógi-

ca, ya que si las semillas pasaron por fuego es posible que germinaran entre el 2014 y el 2015, de tal forma que las plántulas contabilizadas podrían tener entre uno y dos años. Le sigue en importancia el evento de quema reciente (UQ_QR), que asumimos que fue de enero a Julio de 2016.

El segundo gráfico (Figura 9) agrupa todas las densidades de plántulas por niveles del factor. Este agrupamiento permitió al programa calcular el coeficiente de determinación

El hecho de que en la mayoría de los sitios no se hayan registrado plántulas quemadas puede significar que las plántulas llegan a alcanzar su estadio juvenil antes del siguiente evento de quema (según encuestas, ocurre mínimamente una vez al año en los campos en los meses más secos que pueden ir de abril a agosto). Los eventos de quema podrían estar facilitando la germinación de las semillas según puede apreciarse en la Figura 9, donde las densidades acumuladas por nivel de factor muestran un coeficiente de determinación (R^2) cercano a la unidad. Este dato coincide con lo que se menciona en la literatura acerca de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Lorenzi, 2006) y *Attalea humilis* (Souza & Martins, 2004; Souza *et al.*, 2000, 2002), cuyos endocarpios leñosos requieren de un proceso de escarificación para facilitar la germinación de la semilla. Lorenzi (2006) menciona que cuando los bosques y sus alrededores sufren períodos de exposición al fuego, es común ver la formación de bancos de plántulas de *Acrocomia aculeata*.

El factor de tres niveles UQ no se adecuó al modelo que agrupó las variables predictoras de la variabilidad de densidades de plántulas, no obstante, es muy notorio que alguna influencia tiene sobre la

densidad de las plántulas.

Factor de manejo: ramoneo

La sexta columna de la Tabla 3 muestra que las plántulas presentaron indicios de ramoneo en cuatro parcelas: en los sitios P01 y P04 en Caaguazú, con 100%; y los sitios P12 y P13, en Misiones, con el 44% y 3,13%, respectivamente. El promedio de ramoneo (sumado cada evento fuera leve, moderado o fuerte) resultó ser moderada, con un 18.37%, para las plántulas superando incluso al porcentaje de indicio de quemadas.

En cuanto a los efectos del ramoneo por ganado o especies silvestres, se han registrado también interesantes y reveladores estudios. Rivas & Barilani (2004), encontraron que los palmares de *Butia capitata* (Mart.) Becc. en Uruguay eran centenarios y que la fase de reclutamiento de plántulas y la fase adulta vegetativa estaban casi totalmente ausentes. Descubrieron que este fenómeno se debía al efecto de herbivoría de vacunos y ovinos, principalmente; y también al hecho de que se asociaban sistemas productivos de establecimiento de arrozales en rotación con ganadería, y/o también a la cría de cerdos a campo abierto. Los autores concluyeron que el palmar podría conservarse con el manejo adecuado del pastoreo. Rivas *et al.* (2014) encontraron que la vulnerabilidad de los palmares de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick se debía a actividades agropecuarias, principalmente el pastoreo sobre los rebrotes de la especie; y la agricultura mayoritariamente arroceras, que altera el hábitat para la supervivencia de las plántulas. Lozada & Moraes (2013) encontraron que las poblaciones de *Acrocomia aculeata* con ganado presentaron mayor número de plántulas, relativamente pocos juveniles y preadultos,

y niveles intermedios de adultos. En las parcelas sin ganado encontraron dos patrones distintos: en uno, las plántulas y juveniles estaban casi ausentes y los preadultos estaban reducidos; en otro, se registraron individuos en todas las categorías de crecimiento y disminución exponencial desde la categoría plántula hasta adultos. Estos datos sugieren que el ganado puede facilitar la regeneración a nivel de plántula, pero perjudicar el desarrollo de las plántulas hacia los estadios de juveniles y preadultos. Sin ganado existe una menor producción de plántulas únicamente en algunas situaciones. Por su lado, los estudios de Cingolani *et al.* (2008) revelaron que el ganado favorece la germinación de las semillas y promueve la regeneración de plántulas debido a que reduce la competencia con pastos y hierbas, mantiene el ciclo de nutrientes, aumenta la fertilidad y disminuye la erosión del suelo.

Aunque el ramoneo no destacó como un factor influyente en la densidad de plántulas en las poblaciones de *B. paraguayensis* en la Región Oriental de Paraguay, la presencia de ganado vacuno, alimentándose de frutos y evacuándolos en la parcela quizás no deje de tener algún efecto favorable sobre la germinación de las semillas y alguna influencia en la distribución, en algunos casos, fuertemente agregada de las plántulas, como se ha visto también para *Acrocomia aculeata* (Lozada & Moraes, 2013).

La cobertura del suelo

En la séptima columna de la Tabla 3 se expone la cobertura de suelo donde se observan mayormente niveles de medio a fuerte (75 y 100% respectivamente). En cinco sitios, P04, P07, P05 y P09, con cobertura fuerte se contaron de cero a tres

plántulas en 20 m² por sitio, contabilizándose solo cuatro plántulas en total. En seis sitios, P14, P03, P12, P08, P11 y P06, con cobertura media se contabilizaron de cero a 12 plántulas en 20 m², con 33 plántulas en total. En tres sitios, P13, P01 y P10, con cobertura leve (50%), se contabilizaron de tres a 32 plántulas en 20 m², totalizando 41 plántulas. En la Figura 10 se representan los sitios ordenados por porcentaje de cobertura, donde se observa cierto patrón en la densidad de plántulas con respecto a la cobertura. A mayor cobertura, específicamente, cobertura fuerte, se contabilizaron menor cantidad de plántulas. Existe poco rango de diferencia entre cobertura leve y media, pero entre cobertura leve y cobertura media existe un rango de 20. Es decir, existe una relación inversamente proporcional entre la cobertura y la densidad de las plántulas. A mayor cobertura, menor densidad de plántulas.

Existen muchos estudios sobre el efecto de la cobertura vegetal en el crecimiento y supervivencia de plántulas de diferentes especies. Así, por ejemplo, Denslow *et al.* (1991) y Benítez-Malvido (2006) comprobaron que la vegetación del sotobosque, especialmente las especies de hoja ancha, y la vegetación herbácea y sufruticosa de los campos y barbechos actúan como un filtro que afecta la distribución y la abundancia del establecimiento de plántulas.

No obstante, al introducir los datos de cobertura al modelo de análisis de datos no se obtuvieron valores estadísticamente significativos.

El uso del suelo

La última columna de la Tabla 3 muestra las categorías de uso del suelo. Se hallaron tres tipos de uso del suelo: silvestre (S), rural (R) y urbano (U). Tres sitios se cate-

gorizaron como silvestres (P05, P08, P12), correspondientes a parcelas instaladas en los predios de parques o reservas biológicas con 0 a 6 plántulas por m², totalizando 7 plántulas. Ocho sitios se categorizaron como de uso rural ganadero (P02, P04, P06, P07, P09, P10, P11, P14), con 0 a 12 plántulas por sitio, en total con 22 plántulas. Por último, tres sitios (P01, P03, P13) se categorizaron como de uso urbano, con 6 a 32 plántulas en 20 m², totalizando 49.

Aparentemente, los sitios de uso urbano favorecieron mucho más el desarrollo de las plántulas que en suelos de uso rural y silvestre. La Figura 11 muestra los sitios agrupados por tipo de uso de suelo, donde se observa claramente una mayor densidad de plántulas en sitios de uso urbano y menores densidades en sitios de uso rural y silvestre. La curva logarítmica trazada presenta un coeficiente de determinación (R²) es de 0,7, es decir, más cercano de la unidad que del cero. No obstante, al introducir los datos de uso de suelo al modelo, no se tuvieron valores de significancia estadística.

El uso del suelo urbano implica limpieza del terreno, introduciendo un hato de ganado o unos pocos individuos en la parcela, o bien maquinaria, o quema. Otro uso relevado fue la remoción de suelo para cosecha de plantas medicinales. No han sido relevados antecedentes de literatura para este caso.

Factores edáficos

Los valores obtenidos en los análisis de suelos muestreados en las parcelas se asentaron en la Tabla 4. Ella contiene tanto los valores de los nutrientes de suelo, pH, materia orgánica y acidez intercambiable. De los valores de textura se decidió incorpo-

rar sólo los porcentajes de arena.

Esta tabla demuestra que los sitios donde crecen las poblaciones analizadas de *B. paraguayensis* presentan, en general, suelos pobres en materia orgánica, en macro nutrientes y en oligoelementos; son ligera a fuertemente ácidos (pH 6,20 a 4,70) y el porcentaje de arena es muy elevado, de un 80 a más de 90%.

Todos los suelos fueron ricos en cobre, 8 parcelas (P01, P05, P07, P08, P09, P10, P11 P14) presentaron pobreza en zinc, pero las demás presentaron cantidades medias a altas de este elemento. Los suelos presentaron exceso en hierro y manganeso, muy por encima de los valores altos de los valores de referencia (Figura 5)

La Tabla 4 permite comparar las densidades de plántulas con los valores de las variables por sitio. Las variables con mayor influencia sobre la densidad han sido el P, el Fe y el pH. La influencia de la MO y de la textura del suelo son menos evidentes en la tabla. Del análisis de las densidades y los valores de las variables surgieron cuatro grupos de densidades y de la caracterización de los grupos trató de interpretarse el funcionamiento de las variables combinadas y su repercusión en las densidades de las plántulas.

Sitios con alta densidad de plántulas

Los sitios con alta densidad de plántulas, P03, P14 y P13, resaltados en gris oscuro, muestran densidades de 11, 12 y 32 individuos/20m², respectivamente. En relación a éstos se tiene un pH ligeramente ácido (5,80-6,00), la MO oscila entre 0,32 y 1,36 mg/Kg (bajo a muy bajo), la concentración del P está entre la media y las máximas concentraciones (4-5 mg/Kg), el porcentaje de arena está entre el 1% por debajo y entre 2 y 4% por encima de la me-

dia. El factor limitante negativo, el hierro, oscila, entre los valores más bajos de toda la ROP (12,86; 17,15 y 34,30 ppm), muy por debajo de la media, que a su vez es mucho mayor que el valor de referencia. Puede observarse en estos tres sitios, que la mayor densidad de las plántulas está muy claramente influida por las mayores concentraciones de fósforo, pero que, al mismo tiempo, está “ayudada” por las más bajas concentraciones de hierro. En estos sitios el pH contribuye de manera débilmente negativa; mayores densidades aparecen con un pH 5,80 y la menor densidad con pH 6,0. En esta condición bastante “óptima”, en el marco de suelos pobres, la MO pareciera tener muy poca incidencia.

Sitios con densidad media de plántulas

Una situación muy particular se observa en los sitios de densidad media (parcelas P01 y P12), con 6 plántulas/20m², donde el pH fue de 5,70; la MO fue baja (0,43-0,58 mg/Kg); el P, de la media para abajo (1,71-2,15 mg/Kg); el Fe, relativamente muy bajo (13,58 y 22,63 ppm) y el porcentaje de arena más alto (89 y 92%). En estos sitios el factor determinante más potente pareciera ser la más baja concentración de hierro, porque estaría permitiendo que el fósforo, aun en bajas concentraciones, actúe positivamente sobre la densidad. Es notable también que la concentración de arena es de 2 a 5% mayor que la media. Como la arena estaría incidiendo de modo directamente proporcional, estos más altos porcentajes ayudarían también a que la densidad no sea baja, a juzgar por la concentración de fosforo.

Sitios con baja densidad de plántulas

Los sitios de baja densidad fueron las parcelas P04, P07, P08, P10, P11 (resalta-

dos en verde). Con 1 a 3 plántulas/20m² presentaron situaciones muy diferentes entre ellas, por lo que fue imprescindible analizarlos por separado.

Sitios con 3 plántulas/20 m².

En los sitios P04, P10 Y P11, con 3 plántulas/20m², el pH fue de levemente ácido a muy ácido (5,70; 4,70 y 5,10 respectivamente); la materia orgánica fue superior a la media (1,46; 0,69; 0,97 mg/Kg); el P en P04, más alto que la media (3,23) y en los demás sitios, más bajo que la media (1,64 y 1,43 mg/Kg); el Fe, bajo en P11 (24,30) y muy alto en P04 y P10 (54,31 y 56,57 ppm) y el porcentaje de arena 1 y 2% más alto en P04 y P10 (89 y 92%) y casi 7% más bajo que la media. Ante estas características muy dispares la densidad fue la misma, aparentemente debido al bajo pH y/o a la mayor cantidad de materia orgánica.

En la P04 se tiene un caso similar a los sitios con densidad media y alta; con fósforo alto, pero con la diferencia de que aquí el hierro fue muy alto; la materia orgánica fue la más alta registrada (1,46 mg/kg), y el pH fue levemente ácido. En este sitio, por tanto, puede notarse muy claramente la influencia directa de la materia orgánica y la influencia inversa del pH en la densidad de las plántulas. En el sitio P10 también se tuvo alta concentración de Fe (56,57 ppm), y esta vez con un fósforo bajo (1,64 mg/kg), además una materia orgánica baja, no debería haber plántulas hasta en este sitio; pero, notablemente, el pH más bajo fue registrado aquí, por tanto, se evidencia nuevamente la fuerte incidencia del pH en la densidad de plántulas en esta parcela. El sitio P11 es casi similar, aunque aquí el hierro es bajo (24,30 mg/kg), el P es el más bajo registrado en el

grupo, pero la materia orgánica es más alta que la media y el pH es ácido a muy ácido (5,10). El hierro bajo, la materia orgánica alta y el pH bajo favorecieron la densidad baja de esta parcela.

Sitios con 1 plántula/ 20 m²

Sorprende que en el sitio P08, donde se ha registrado el valor más bajo de fósforo (0,77 mg/kg) y una alta concentración de hierro (55,19 ppm) aún se haya encontrado una plántula. Sin embargo, aparece una alta proporción de materia orgánica (1,11 mg/kg) 0,28 mg más que la media y un pH bajísimo (4,70). Aquí resulta evidente que el pH y la materia orgánica determinan la presencia de la plántula. Así mismo la P07 muestra condiciones similares, solo que aquí el fósforo es mucho mayor por encima de la media, pero sólo hay una plántula. Se observa que el pH subió hacia levemente ácido y la materia orgánica disminuyó.

Sitios con nula densidad de plántulas

Hay 4 sitios sin plántula alguna: P02, P05, P06 y P09. ¿Qué factores jugaron un papel preponderante en el no reclutamiento de plántulas?

En todos los sitios el hierro es elevadísimo, pero en los sitios P02 y P05 hay condiciones por parte del fósforo (3,33 y 2,42 mg/kg) y de la materia orgánica (1,33 y 0,72 mg/kg) para las plántulas, en cambio un pH levemente ácido ejerce su influencia negativa en estos sitios, ayudado por un porcentaje bajo de arena (83%), éstos son los factores negativos determinantes.

En los sitios P06 y P09 todas las condiciones son adversas, donde los factores determinantes son esta vez la bajísima concentración de fósforo y la alta concentración de hierro.

De esta tabla se seleccionaron el fósforo y el hierro por tener una alta correlación con la densidad de plántulas (Anexo 2), además por ser conocido el efecto del fósforo en el desarrollo de las primeras raíces en plántulas (Plaster, 2000). El pH se seleccionó por su conocida influencia indirecta en la solubilidad de los nutrientes en el suelo. Se seleccionó la materia orgánica, que es el esqueleto donde se “insertan” los nutrientes en diferentes proporciones y están disponibles para la planta y evita la lixiviación de los nutrientes. De entre las texturas se probó la arena, porque a pesar de tener una aparente correlación muy baja (0,19) fue positiva con respecto a la densidad de plántulas y la más alta de los factores de textura.

Factores meteorológicos

Los datos de las variables meteorológicas de los sitios muestreados en la ROP son presentados en la Tabla 5. Estos factores también fueron incluidos en la mega tabla Excel para calcular la matriz de correlaciones (Anexo 1b). A pesar de que todas ellas presentaron correlaciones distintas de cero, ninguna de estas variables resultó ser estadísticamente significativa por lo que no se incluyó al modelo de regresión múltiple.

Algunas observaciones destacadas en relación a estas variables y la densidad de plántulas se desprenden de la tabla de correlaciones (Anexo 1b), donde se observa un nivel de correlación negativa de -0,49 con respecto a la media de la precipitación anual. Esta correlación negativa era de esperarse, observando las características de la textura del suelo donde las densidades son mayores, es decir, suelos más arenosos que no retienen el agua a nivel superficial,

de 15 a 30 cm, en el que las raicillas de las plántulas llegan.

VARIABLES PREDICTORAS PARA EL MODELO PASO A PASO

Se seleccionaron finalmente las siguientes variables como productoras: P, Fe, pH, MO, Arena, Zn, Cu, UQ, Cob_S, Uso. Todas estos predictores fueron incluidos en el modelo, en el que paso a paso se iba eliminando las variables que no mostraban un p-valor igual o inferior a 0,05, que luego no disminuían el AIC más de dos unidades de su valor en el modelo completo.

ANÁLISIS DE DATOS

Después de realizar la exploración exhaustiva de datos mediante matrices de correlación, regresiones simples y gráficos de dispersión de algunas variables preseleccionadas (Anexo 2), quedaron el pH, la MO, el P, el Fe y el porcentaje de arena como candidatos finales para el modelo de regresión.

En las tablas 6, 7 y 8 se presentan los procesos de selección final del mejor modelo explicativo, el más parsimonioso y el que tuvo el AIC más bajo de todos los modelos probados (55,274), así como con una devianza explicada del 94,5%, de toda la

variabilidad de la densidad de plántulas en los sitios muestreados de la ROP.

La Tabla 6 muestra cómo las variables edáficas contribuyeron a explicar las diferencias de regeneración entre sitios. La columna Estimate indica el sentido, directa o indirectamente proporcional en que la variable actúa sobre la densidad de plántulas. Como puede observarse mayores concentraciones de fósforo, un mayor porcentaje de materia orgánica y de arena en el suelo contribuyen a una mayor densidad de plántulas en los sitios de muestreo. Sin embargo, el aumento de la concentración de hierro y de pH (de ácido a levemente ácido), tienen un efecto inhibitorio.

La columna Pr (>|z|) muestra todos valores de p por debajo de 0,05, lo que indica que los resultados son estadísticamente significativos, por tanto, puede aceptarse la hipótesis alternativa de que éstas son las variables que tienen una clara influencia sobre la densidad de plántulas. En la Tabla 7 se indica la devianza o análisis de la varianza, explicada en porcentajes. Así, según este modelo, el fósforo explica el 81% de la varianza; luego, de lo que resta por explicar, que es el 19%, el hierro explica el 27% y así sucesivamente hasta llegar a la variable textura (arena). Se observa que los valores de Pr (>F) son significativos y de

Tabla 8. ANOVA TIPO II. Criterio de información de Akaike.

	Df	Deviance	AIC	F value	Pr(>F)
<none>		7,087	53,274		
P	1	42,330	86,518	39,785	0,0002309 ***
Fe	1	40,115	84,302	37,285	0,0002875 ***
pH	1	18,379	62,566	12,747	0,0072903 **
MO	1	17,133	61,321	11,341	0,0098197 **
ARENA	1	14,150	58,338	7,974	0,0223617 *

Valores de significancia: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

menos de 0,05.

La Tabla 8 recoge los cálculos del ANOVA TIPO II, que informa acerca de la significancia de las variables utilizando el criterio de información de Akaike (AIC). Se observa que el valor del AIC del modelo cuando cada variable es eliminada mediante un proceso 'jackknife' es holgadamente mayor con respecto al modelo que mantiene todas las variables, lo que indica que el modelo que retiene esas variables es mucho mejor estadísticamente que un modelo más simple.

Según los resultados de los análisis de regresión lineal, la densidad de plántulas de *B. paraguayensis* en los sitios muestreados está determinada principalmente por la fertilidad del suelo en el momento de la germinación de la semilla (Tablas 7, 8 y 9). El P y el Fe, influyeron en un gran porcentaje sobre la densidad de las plántulas, seguidos por el porcentaje de la materia orgánica, el pH y la textura (porcentaje de arena). En parcelas donde las concentraciones de P fueron mayores las densidades de plántulas fueron mayores también, por tanto, el P es un factor positivo para las plántulas. Este es un resultado esperado, pues coincide con los muchos estudios realizados en plantas (Fink *et al.*, 2016; Odum, 1986; Sánchez, 1981), ya que el P estimula desde temprano el rápido crecimiento de las raíces (Plaster, 2000), independientemente de los grupos taxonómicos.

Primavesi (1988, 1990) menciona que los suelos del clima subtropical presentan bajos niveles de calcio, magnesio y potasio y que poseen grandes cantidades de óxidos de hierro y aluminio, minerales que son fijadores del fósforo, lo que limita su disponibilidad para las plantas. Como las poblaciones estudiadas de *B. paraguayensis* se

asientan en su totalidad sobre suelos arenosos, la fisionomía de la vegetación es similar en muchos casos a la del cerrado, y de hecho algunas parcelas fueron asentadas en remanentes de cerrado, por tanto, puede asumirse que las características del suelo serán similares a las que se pueden encontrar en el cerrado brasileiro. Al respecto, Coutinho (1982), recopilando estudios de varios autores, expuso el carácter generalmente oligotrófico de los suelos del cerrado del Brasil, es decir, suelos muy pobres en nutrientes minerales, además de ser muy ácidos y con niveles tóxicos de aluminio (que no es el caso de los sitios estudiados), y se ha atribuido a esta oligotrofia la característica pronunciadamente escleromorfa de las leñosas del cerrado.

El Fe ejerció por su parte una gran influencia inversamente proporcional en la presencia y densidad de plántulas en los sitios. Si bien todos los suelos examinados tenían excesivas concentraciones de hierro, mucho más que lo considerado como alto en la referencia (>8 ppm, Figura 5), las plántulas de *B. paraguayensis* se mostraron sensibles a variaciones entre grandes cantidades de Fe en los sitios.

Aunque es posible que mucha cantidad de hierro se encuentre en forma de compuestos insolubles tales como el hidróxido férrico, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, es de suponer que, si el hierro se hallaba disponible en toda la concentración aparecida en los análisis, tuvo que ejercer un rol decisivo en el establecimiento y densidades de las plántulas. Allí donde los valores de hierro fueron más altos no se establecieron plántulas o bien la presencia de ellas fue más escasa (Tabla 4, Anexo 2c).

El hierro puede resultar tóxico en altas concentraciones. Puede actuar catalíticamente a través de la reacción de Fenton pa-

ra generar radicales hidroxilos, que pueden dañar lípidos, proteínas y ADN en las células (Connolly & Guerinot, 2002). Al igual que otros metales del grupo de transición el hierro puede generar estrés oxidativo, que es la oxidación destructiva de las proteínas, DNA, esteroides y lípidos insaturados de las membranas por acción de metabolitos reactivos de oxígeno como el peróxido de hidrógeno, que requiere Fe en forma FeO_2 (Benavides Mendoza, 1999). Esta cualidad del hierro podría ser una causa por la que en algunos sitios con mayor exceso de hierro podría estar inhibiendo la germinación de las semillas o bien, el desarrollo del embrión a plántula.

Otro aspecto muy importante a considerar sobre las concentraciones de P y Fe tiene que ver con los procesos químicos que ocurren en el suelo con estos dos elementos, que no están aislados sino formando compuestos diversos (Plaster, 2000).

Los resultados del análisis mostraron también que, además de las concentraciones de P y Fe, son importantes las pequeñas variaciones de pH, materia orgánica y arena para el desarrollo de las plántulas.

El pH del suelo es un factor indirecto que tiene mucha influencia en el desarrollo de las plantas, así como también en la cantidad y actividad de los microorganismos en el suelo, que regulan en alto grado la mineralización de la materia orgánica y por lo tanto son imprescindibles para la fertilidad, aportando macronutrientes y oligoelementos. Otro factor también muy perjudicial para las plantas en los suelos fuertemente ácidos es la toxicidad del aluminio (Goodland, 1971), ya que su solubilidad aumenta a medida que disminuye el pH (Fassbender & Bomemisza, 1987). Pero este factor no ha sido determinante en la abundancia de las plántulas ya que en la

mayoría de los sitios muestreados no se ha detectado aumento del aluminio en suelos cuyo pH ha estado oscilando entre ligeramente ácidos y ácidos.

Otro ejemplo de que el pH puede cambiar el estado de los nutrientes es el fósforo. Si el pH baja de 5,8, el fósforo reacciona con el hierro y produce un compuesto insoluble. Por encima de un pH de 6,0 la reacción se invierte y el compuesto libera el fósforo.

A un pH más alto el fósforo reacciona con el calcio, inmovilizándolo en un compuesto insoluble. Otros nutrientes también tienen sus rangos de disponibilidad para las plantas conforme el pH del suelo. Sánchez (1981) informa que la gran mayoría de los suelos de los trópicos son ácidos (esta referencia incluye los suelos de Paraguay, hasta latitudes un poco mayores que los 23° de latitud) y se puede generalizar con seguridad que una gran proporción de los trópicos está ocupada por suelos con valores de pH menores de 6.

El contenido de materia orgánica en el suelo es un buen indicador de la fertilidad del suelo, especialmente por su capacidad de suministrar nutrientes como el nitrógeno y otros a las plantas (Rodríguez & Rodríguez, 2002). Según Plaster (2000) del 97 al 99% del nitrógeno se halla contenido en la materia orgánica. Por tanto, es posible, de manera indirecta, percibir la acción del nitrógeno en el establecimiento de las plántulas en los sitios, aun a pesar del bajo porcentaje de materia orgánica registrado en las parcelas. Las diferencias de porcentaje de materia orgánica han mostrado ser suficientes para marcar algunas leves pero significativas diferencias en el establecimiento de las plántulas en las parcelas. Por tanto, es muy probable que una mayor disponibilidad de materia orgánica segura-

mente esté correlacionada con una mayor disponibilidad de nitrógeno.

Un resultado que no tiene directamente que ver con la densidad de las plántulas, sino con las características de los suelos estudiados es que en los sitios donde el fósforo estaba aumentado la materia orgánica estaba reducida y viceversa. Con respecto a las relaciones de disponibilidad del fósforo en el suelo en relación a la materia orgánica y la absorción del hierro son discutidos por varios autores. Fink *et al.* (2016) informan que los óxidos de hierro prevalecen en los oxisoles tropicales y subtropicales. La presencia de uno de ellos, la goethita, es favorecida por los altos contenidos de materia orgánica y el pH ácido en los suelos. Los ácidos orgánicos en el suelo también pueden competir por los sitios de adsorción de fósforo o, si se adsorbieron previamente, pueden alterar la carga superficial de óxidos de hierro y hacer que los fosfatos sean repelidos electrostáticamente. La sorción de fósforo disminuye en ambos casos. Los autores postulan que la adsorción del fósforo puede ser sustancialmente reducida por óxidos de hierro en presencia de compuestos orgánicos.

Sin embargo, Afif *et al.* (1995) sugieren que la acción de bloqueo de los compuestos orgánicos sobre la sorción de fósforo es solo transitoria. Estos autores hallaron que la concentración de ácidos orgánicos de bajo peso molecular en extractos de suelos que contienen fósforo aumenta; esto sugiere que los ácidos pueden retrasar, pero no prevenir la adsorción de fósforo.

González *et al.* (1974) mencionan que no existe relación entre el nivel de materia orgánica y el fósforo disponible, su estudio informa que suelos que presentaron deficiencia de fósforo tenían bastante materia orgánica. La deficiencia de fósforo en sue-

los comparativamente altos en nitrógeno y materia orgánica se atribuyó a un efecto indirecto de la absorción de NO_3 por la planta. Ocurre que cuando la planta absorbe N-NO_3 (N en forma de nitrato), hay excreción de OH o HCO_3^- desde la raíz, incremento del pH en la interfase suelo raíz, aumento en la proporción de HPO_4^{2-} sobre los H_2PO_4^- , y por ende menor solubilidad y absorción de fósforo. Efectos contrarios a los nombrados acarrearía la utilización de N-NH_4 por la planta (PPI, 1999).

Otro factor edáfico influyente en la densidad de las plántulas fue la textura, en este caso mayores porcentajes de arena tuvieron una influencia positiva sobre la abundancia de plántulas. Todos los sitios tuvieron un alto porcentaje de arena, que osciló entre el 81 a 92%. Aunque en los sitios con mayor densidad de plántulas el porcentaje de arena fue levemente mayor, tuvo un significado estadístico y relevancia biológica. Es importante recordar que un alto porcentaje de arena en el suelo mantiene tasas de infiltración y aireación muy buenas (Plaster, 2000) pero retienen muy poco los nutrientes pues son lixiviados con facilidad a los horizontes más profundos del suelo.

CONCLUSIONES

Los análisis de los resultados revelaron que las variables edáficas, así como los factores de manejo, cobertura, uso del suelo y última quema; ejercen influencia sobre la variabilidad de la densidad de plántulas en las parcelas muestreadas.

La variabilidad de la densidad de plántulas en los sitios de la Región Oriental de Paraguay pudo ser explicada por el modelo, basado en variables edáficas, en un

95,5% (valor de la deviance o varianza por el método de la máxima verosimilitud), donde el fósforo contribuyó con el 63,09%, el hierro con el 21,47%, el pH con el 2,02%, la materia orgánica con 2,43%, y el porcentaje de arena en el suelo con el 5,48% de la variabilidad.

Respecto a los resultados del modelo con las variables edáficas podría inferirse que, en sitios con mayores concentraciones de fósforo habrá mayor densidad de plántulas; en sitios con mayores concentraciones de hierro habrá menor densidad de las plántulas. En sitios con bajas concentraciones de hierro y altas concentraciones de fósforo y un pH levemente ácido la densidad será alta, pero en sitios con altas concentraciones de hierro y bajas concentraciones de fósforo, si el pH es levemente ácido probablemente no se encuentre ninguna plántula, en cambio si fuera muy ácido, sí habría posibilidad de encontrar al menos una plántula en el sitio. Es decir, que, aunque la contribución del pH sea pequeña, resulta determinante en el establecimiento de al menos algunas plántulas en los sitios con altas concentraciones de hierro y bajas concentraciones de fósforo. Lo mismo se puede decir de la materia orgánica y el porcentaje de arena, que influyen de manera directamente proporcional a la densidad de plántulas, de modo que a mayor concentración de materia orgánica y mayores porcentajes de arena en la textura del suelo aumentaría la densidad de plántulas.

Un aspecto importante derivado de este estudio es que se pudo vislumbrar superficialmente la complicada relación entre los componentes del suelo y su importancia en el establecimiento, y la supervivencia de las plántulas hasta que puedan pasar a la siguiente franja etaria.

Si bien cada uno de los factores de manejo mencionados, al ser testeados por análisis de varianza no mostraron ser estadísticamente significativos, por separado mostraron tener una marcada influencia sobre la densidad de las plántulas.

Así, por ejemplo, se puede afirmar en este estudio que la cobertura fuerte (Cob_S/F) influye de manera negativa al reclutamiento de las plántulas; el uso urbano (Uso_U) influye positivamente sobre el mismo; y la última quema (UQ_QI), las quemas intermedias (de los años 2014 al 2015) también influyeron positivamente en las densidades actuales de las plántulas.

No se ha logrado determinar el grado de influencia de estas variables en conjunto con las demás. Teniendo en cuenta que la muestra era pequeña, lo más probable es que se tenga que ampliarla para incluir estos parámetros, ya que se introducirían tres factores con tres niveles cada uno. Así se tendrían al comienzo del modelado nueve variables.

Ninguna de las variables meteorológicas testeadas mostró influir significativamente sobre la densidad de plántulas en la ROP.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amat Rodrigo, J. (2016a). Introducción a la Regresión Lineal Múltiple. Disponible en: https://github.com/JoaquinAmatRodrigo/Estadistica-con-R/blob/master/PDF_format/25_Regresi%C3%B3n_lineal_m%C3%BAltiple.pdf
- Afif, E.; Barrón, V.; Torrent, J. (1995). Organic Matter Delays but Does Not Prevent Phosphate Sorption by Cerrado Soils from Brazil. Soil Science (US).

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de Butia paraguayensis

- 159 (3): 2017 – 211. DOI: 10.1097/00010694-199515930-00008.
- Balch, J. K.; Massad, T. J.; Brando, P. M.; Nepstad, D. P.; Curran, L. M. (2013). Effects of high-frequency understory fires on woody plant regeneration in south-eastern Amazonian forests. *Phil. Trans. R. Soc. B. (UK)* 368, 20120157. Disponible en <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/368/1619/20120157#ref-30>.
- Barilani, A. (2002). Caracterización de los palmares de *Butia capitata* (Mart.) Becc. de Castillos y San Luis (Rocha): Incidencia de los coleópteros consumidores de semillas. Tesis (Ing. Agr.) Montevideo, Uruguay: Facultad de Agronomía. Universidad de la República. 101 p.
- Basualdo, I.; Soria, N. (2002). 100 especies del cerrado en Paraguay. Facultad de Ciencias Químicas (FCQ-UNA) - Missouri Botanical Garden. San Lorenzo, Paraguay. 220 p.
- Benavides Mendoza, A. (1999). Absorción y Asimilación de Hierro en las Plantas. Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Disponible en http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/hierro_en_plantas.pdf.
- Benitez-Malvido, J. (2006). Effect of Low Vegetation on the Recruitment of Plants in Successional Habitat Types. *Biotropica* (US). 38(2): 171 – 182.
- Burnham K.P.; Anderson D.R. (1998). Practical Use of the Information-Theoretic Approach. In: Model Selection and Inference. Springer, New York, NY
- Catálogo De Plantas. Vasculares de Flora Del Cono Sur. (2016). Instituto de Botánica Darwinion. Buenos Aires Argentina. Consultado el 09 ago 2016. Disponible en www2.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/Especies.asp.
- Catalogue Des Herbiers De Genève. (CHG). (2016). Conservatoire & Jardin botaniques de la Ville de Genève. Ginebra Suiza. Consultado el 09 ago. 2016. Disponible en www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/chg.
- Cingolani, A. M.; Noy-Meir, I.; Renison, D. D.; Cabido, M. (2008). La ganadería extensiva ¿es compatible con la conservación de la diversidad y los suelos?
- Connolly, E. L. & Guerinot, M. L. (2002). Iron stress in plants. *Genome Biology* (UK). 3(8): 1024.1–1024.4.
- Coutinho, L. M. (1982). Ecological Effects of Fire in Brazilian Cerrado. In: Huntley, B. J.; Walker B.H. (ed.) Ecology of Tropical Savannas. (DE). Ecological Studies. 42: 273–291.
- Deble, L.P.; Marchiori, J.N.C.; Alves, F.D. & Oliveira- Deble, A.S. (2011). Survey on *Butia* (Becc.) Becc. (Arecaceae) from Rio Grande do Sul state (BR). *Balduinia* (BR). 30: 3 – 24.
- Denslow, J. S; Newell, E. & Ellison, A.M. (1991). The Effect of Understory Palms and Cyclanths on the Growth and Survival of Inga Seedlings. *Biotropica* (US). 23(3): 225 – 234.
- Elzinga, C.; Salzer, D.; Willoughby, J. & Gibbs, J. (2001). Monitoring plant and animal populations. Nueva York: Blackwell Science, Inc. 360 p.
- Fassbender, W. & Bomemisza, E. (1987). Química de suelos, con énfasis en suelos de América Latina. Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura (IICA). 2da edición. San José, CR. 420 p.
- Fink, J. R.; Vasconcellos, I.; Tiecher, T. & Barrón, V. (2016). Iron oxides and

- organic matter on soil phosphorus availability. *Ciência e Agrotecnologia* (BR). 40 (4): 369-379. doi.org/10.1590/1413-705420164040 23016.
- Flora Do Brasil. (2020) em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro Brasil. Consultado 9 ago 2016. Disponible en: [www://florado-brasil.jbrj.gov.br/](http://www.florado-brasil.jbrj.gov.br/)
- Fox, J. (2005). The R Commander: A Basic Statistics Graphical User Interface to R. *Journal of Statistical Software*, 14(9): 1–42.
- Gatti, C. (1985). Enciclopedia Guarani – Castellano de Ciencias Naturales y Conocimientos Paraguayos. Arete Nuevo Editores. Asunción.
- Gauto, I.; Spichiger, R.E. & Staufer, F.W. (2011). Diversity, distribution and conservation status assessment of Paraguayan palms (Arecaceae). *Biodivers. Conserv.* (NL). 20: 2705 – 2728.
- GBIF.org (18 de abril de 2016) Ocurrencia de GBIF Descargar [https:// doi.org /10.15468/dl.ogagbr](https://doi.org/10.15468/dl.ogagbr)
- Gómez Duarte, D.R. s. f. Bosquejo geológico de los esteros del Ñeembucú. Consultado el 23 mar 2016. Disponible en: www.geologiadelparaguay.com.py.
- Gómez, J. D.; Monterroso Rivas, A. I. (2012). Caracterización del Índice de Aridez en México usando dos alternativas de estimación de la evapotranspiración potencial y escenarios de cambio climático. Conference: 8º Congreso de la Asociación Española de Climatología, At Villares de la Reina, Salamanca, España, Volume: 1. Disponible en <https://www.researchgate.net/publication/263351086>. Consultado en 02.2018
- González-M., R.; Parrado-Roselli, A. & López-Camacho, R. (2012). Estructura poblacional de la palma *Iriartea deltoidea*, en un bosque de tierra firme de la Amazonia Colombiana. *Caldasia* 34(1) :187-204.
- González T., R.; Pérez, S. R.; Chirinos, A. V. & Mccants, C. B. (1974). *Agronomía Tropical* (VE). 24 (4): 317 – 334.
- Goodland, R. 1971. Oligotrofismo e aluminio no cerrado. In: Simposio sobre o cerrado, 3., 1971, Sao Paulo. Anais do 3o. Simposio sobre o Cerrado. Sao Paulo. E. Blucher/EDUSP.
- Google Earth. (2016). <http://www.google.es/earth/index.html>.
- Hahn, W. (1990). A synopsis of the palmae of Paraguay. Thesis (MSc). New York: Faculty of the Graduate School Cornell University. 226 p.
- Hanratty, D. M. & S. W. Meditz, (eds). (1990). Paraguay: A Country Study. Washington, DC: Federal Research Division, Library of Congress, [https:// www.loc.gov/item/89600299/](https://www.loc.gov/item/89600299/)
- Harris, I.; Jones, P.D.; Osborn, T.J. & Lister, D.H. (2014). Updated high-resolution grids of monthly climatic observations – the CRU TS3.10Dataset. *Int. J. Climatol.*, 34: 623–642. (doi: 10.1002/joc.3711).
- Hordijk, I.; Meijer, F.; Nissen, E.; Boorsma, T. & Poorter, L. (2019). Cattle affect regeneration of the palm species *Attalea princeps* in a Bolivian forest-savanna mosaic. *Biotropica* 51: 28-38.
- Kindt, R. & Coe, R. (2005). Tree diversity analysis A manual and software for common statistical methods for ecological and biodiversity studies. World Agroforestry Centre, Nairobi, Kenya (ICRAF).
- Lorenzi, G. M. A. (2006). *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. – Arecaceae: Bases Para O Extrativismo

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de Butia paraguayensis

- Sustentável. Tesis (Doctoral). Curitiba, Paraná, Brasil: Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- Lorenzi, H.; Noblick, L.; Kahn, F. & Ferreira, E. (2010). Flora Brasileira Lorenzi: Arecaceae (Palmeiras). Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda.
- Lozada G., S. & Moraes R., M. (2013). Estructura poblacional del totaí (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae) según presencia de ganado en localidades de Beni y Santa Cruz (Bolivia). *Ecología en Bolivia* (BO). 48(2): 72 – 86.
- Lunazzi, M.M. (2009). Estructura y dinámica poblacional de la palmera *Butia yatay* (Mart.) Becc. en la sabana del Parque Nacional El Palmar: análisis en la escala de stand. Tesis. Magíster de la Universidad de Buenos Aires, área: Recursos Naturales Escuela para Graduados Alberto Soriano. Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires.
- Medina González, H.; García Coronado, J. & Núñez Acosta, D. (2007). El método del hidrómetro: base teórica para su empleo en la determinación de la distribución del tamaño de partículas de suelo. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 16(3):19-24. [fecha de Consulta 25 de marzo de 2020]. ISSN: 1010-2760. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=932/93216305>.
- Mereles, F. (2007). Diversidad Vegetal en el Paraguay. En: Salas Dueñas, D y Facetti, J. F. (Ed.). Biodiversidad del Paraguay. Fundación Moisés Bertoni, Paraguay.
- Odum, E. (1986). Fundamentos de Ecología. Nueva Edit. Interamericana, S. A.
- Olson, D.; Dinerstein, E.; Wikramanayake, E. D.; Burgess, N. D.; Powell, G. V. N.; Underwood, E. C.; D'Amico, J. A.; Itoua, I.; Strand, H. E.; Morrison, J. C.; Loucks, C. J.; Allnutt, T. F.; Ricketts, T. H.; Kura, Y.; Lamoreux, J. F.; Wettengel, W. W.; Hedao, P. & Kassem, K. R. (2001). Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth. *Bioscience* 51(11):933-938.
- Pereira Júnior, A.; Oliveira, S. L. J.; Pereira, J. M. C. & Amaral Turkman, M. A. (2014). Modelling Fire Frequency in a Cerrado Savanna Protected Area. *Plos One* 9(7):1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102380>
- Peters, Ch. M. (1996). The ecology and management of non-timber forest Resources. World Bank technical paper; ISSN: 0253-7494; no. 322.
- Plaster, E. (2000). La ciencia del suelo y su manejo. International Thompson Editores Spain Paraninfo, S. A.
- PPI. (1999). Phosphorus for Agriculture. *Better Crops with plant food* 83 (1): 6 – 20. Potash & Phosphate Institute (PPI).
- Primavesi, A. (1988). A Agricultura en Regiones Tropicáis. Manejo Ecológico do Solo. ESALQ- SP. Nobel. São Paulo: BR.
- Primavesi, A. (1990). Manejo ecológico del suelo: la agricultura en regiones tropicales. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, AR. 499PR-PROJECT. <http://www.r-project.org>, <http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Misc/Rcmdr/>
- Quevedo, O. Del C. (dir.). (2007). Geografía Ilustrada Del Paraguay. Pág. 57. Grupo Editorial Aramí, S. R. L. Asunción, Paraguay. ISBN 99925-68-04-6.

- Quinn, G. P. & Keough, M. J. (2002). Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge: Cambridge University Press. 509 p.
- Rivas, M. & Barilani, A. (2004). Diversidad, potencial productivo y reproductivo de los palmares de *Butia capitata* (Mart.) Becc. de Uruguay. *Agrociencia* (UY). 8 (1): 11 – 20.
- Rivas, M.; Jaurena, M.; Gutiérrez, L. & Barbieri, R.L. (2014). Diversidad vegetal del campo natural de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick en Uruguay. *Agrociencia* (UY). 18 (2): 14 – 27.
- Rodríguez, H. & Rodríguez, J. (2002). Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de interpretación. México, Trillas: UANL.
- Samani, Z. (2000). Estimating Solar Radiation and Evapotranspiration Using Minimum Climatological Data. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*. Vol. 126: 4: 265 – 267.
- Sánchez, P. (1981). Suelos de los trópicos: características y manejo. San José, CR: IICA: 634 p.
- Silva, J. C. (1994). Macaúba: fonte de matéria-prima para os setores alimentício, energético e industrial: Trabalho de conclusão da disciplina Cultivo de essências exóticas e nativas. Viçosa: Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa. 41 p.
- SEAM, (2013). Resolución N° 614/13 de la Secretaría del Ambiente “Por La cual se establecen las ecorregiones para las Regiones Oriental y Occidental Del Paraguay”. Consultado 23.05.2017. Disponible en www.seam.gov.py/sites/default/files/res_seam_614-13.pdf
- SEAM (2015). Nota DGPCB N° 024/14.
- SEAM, (2016). Mapa de amenaza de incendio. Dirección de Geomática, Departamento Teledetección y S.I.G. Consultado el 30-11-2017. Disponible en <http://www.seam.gov.py/sites/default/files/users/editor/AMENAZAS.jpg>
- SEAM, (2017). Mapas de focos de incendio: Instrumentos para el control y cuidado del ambiente en Paraguay. Publicado el 7-07-2017. Consultado el 30-11-2017. Disponible en <http://www.seam.gov.py/content/mapas-de-focos-de-incendios-instrumentos-para-el-control-y-cuidado-del-ambiente-en-paraguay>
- Soares, K. P. (2015). Le genre *Butia*. *Princeps* (FR). 1: 12 – 58.
- Souza, A. F.; Martins, F. R. (2004). Population structure and dynamics of a neotropical palm in fire-impacted fragments of the Brazilian Atlantic Forest: *Biodivers. Conserv.* (NL).13: 1611 – 1632.
- Souza, A. F.; Martins, F. R. & Silva Matos, D. (2000). Detecting ontogenetic stages of the palm *Attalea humilis* Mart. ex Spreng. in fragments of the Brazilian Atlantic forest. *Can. J. Bot.* 78: 1227 – 1237.
- Souza, A. F.; Martins, F. R. & Silva Matos, D. (2002). Spatial distribution of an undergrowth palm in fragments of the Brazilian Atlantic Forest. *Plant Ecology* 164: 141–155.
- Spichiger, R.; Palese, R. & Chautems, A. & Ramella, L. (1995) Origin, affinities and diversity hot spots of the Paraguayan dendrofloras. *Candollea* 50: 515-537.
- Thompson B., N.; Moraes R., M. & Baudoin W., M. (2009). Estructura poblacional de la palmera endémica *Parajubaea torallyi* (Mart.) Burret en zonas aprovechadas del Área Natural de Manejo Integrado El Palmar (Chuqui-

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis*

- saca, Bolivia). *Ecología en Bolivia (BO)* 44(1): 17 – 35.
- TROPICOS, (2016). Missouri Botanical Garden. Saint Louis Missouri Estados Unidos de América. Consultado 15 mar 2016. Disponible en <http://www.tropicos.org>.
- Villalba Palacio, H. & Galeano, M. (2007). Determinación de la composición química del aceite extraído de los frutos de *Butian yatay* var. *paraguayensis* L. Yataí. *Investigaciones y Estudios de la UNA (PY)* 2(1):9 –19

ANEXOS
-Anexo 1a

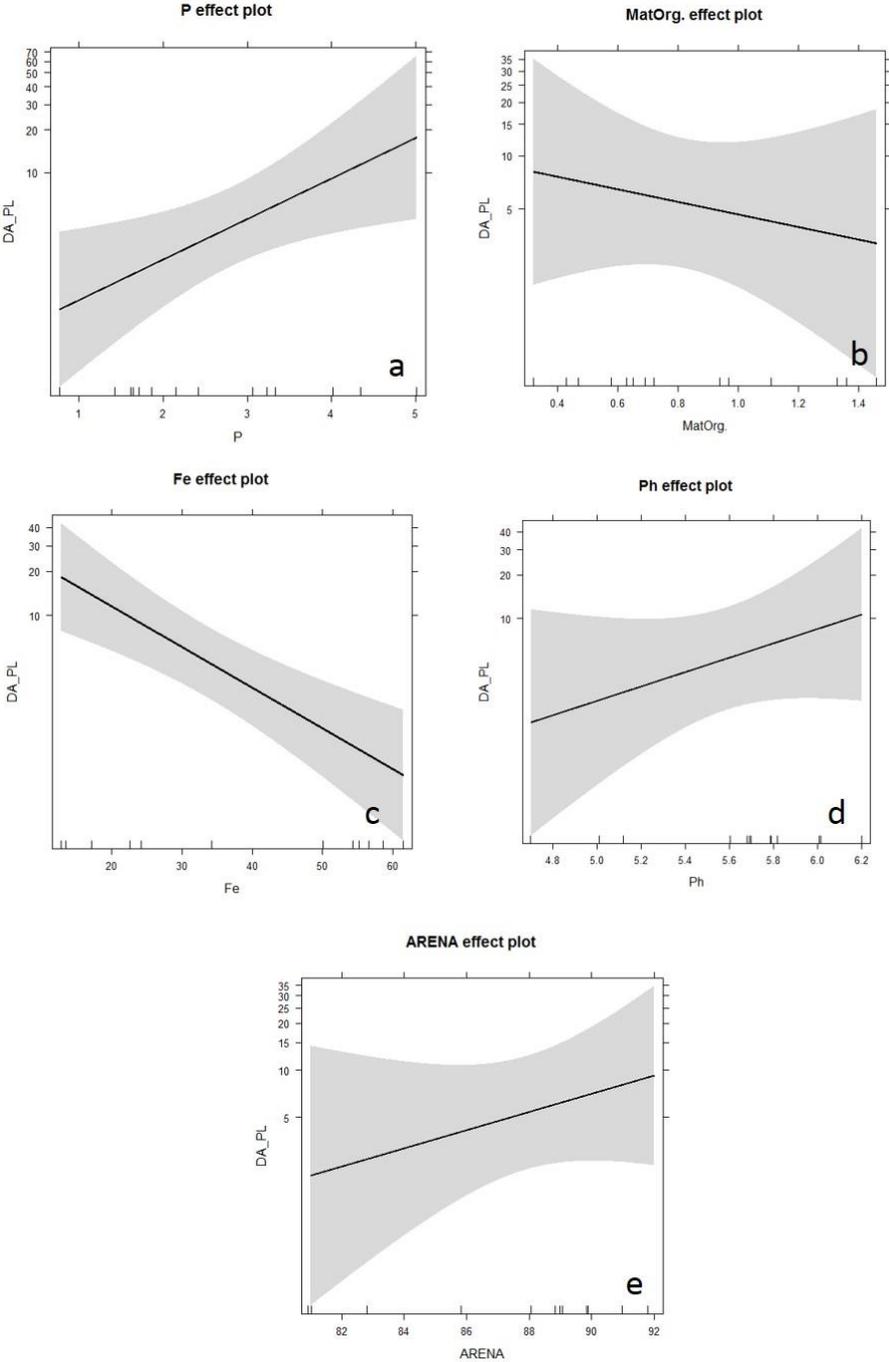
VARIABLES	DA_PI	Ph	MO	P	Ca.2	Mg.2	K.	NA.	AL.H.	Cu	Zn	Fe	Mn
DA_PI	1,00	0,23	-0,20	0,71	-0,14	-0,18	-0,25	0,59	-0,25	-0,21	0,30	-0,65	-0,07
%TRPI	-0,02	0,17	0,09	-0,04	-0,17	-0,16	0,26	-0,11	-0,31	-0,25	0,07	-0,21	-0,18
%R_TOTAL	-0,05	0,22	-0,12	-0,09	-0,22	-0,28	0,12	-0,01	-0,36	-0,22	-0,01	-0,29	-0,28
INEX	-0,23	-0,30	-0,23	-0,01	-0,32	-0,37	-0,22	-0,24	0,13	-0,18	-0,01	0,28	-0,05
%INEX	-0,23	-0,30	-0,23	-0,01	-0,32	-0,37	-0,22	-0,24	0,13	-0,18	-0,01	0,28	-0,05
IQ	0,11	0,35	0,19	0,37	-0,23	-0,28	0,15	-0,27	-0,33	-0,46	0,34	0,07	0,11
pH	0,23	1,00	0,08	0,54	0,16	0,25	0,53	0,06	-0,94	-0,03	0,29	-0,19	0,23
MO	-0,20	0,08	1,00	0,06	0,56	0,55	0,74	-0,36	0,01	0,39	0,46	0,40	0,67
P	0,71	0,54	0,06	1,00	0,03	0,00	0,18	0,28	-0,52	-0,09	0,28	-0,32	0,08
Ca.2	-0,14	0,16	0,56	0,03	1,00	0,76	0,66	-0,24	0,02	0,24	0,02	0,19	0,55
Mg.2	-0,18	0,25	0,55	0,00	0,76	1,00	0,66	0,05	-0,10	0,60	-0,05	0,08	0,35
K.	-0,25	0,53	0,74	0,18	0,66	0,66	1,00	-0,42	-0,45	0,23	0,29	0,32	0,61
NA.	0,59	0,06	-0,36	0,28	-0,24	0,05	-0,42	1,00	-0,15	0,16	0,11	-0,83	-0,28
AL.H.	-0,25	-0,94	0,01	-0,52	0,02	-0,10	-0,45	-0,15	1,00	0,06	-0,38	0,32	-0,22
Cu	-0,21	-0,03	0,39	-0,09	0,24	0,60	0,23	0,16	0,06	1,00	-0,06	0,08	0,09
Zn	0,30	0,29	0,46	0,28	0,02	-0,05	0,29	0,11	-0,38	-0,06	1,00	-0,15	0,68
Fe	-0,65	-0,19	0,40	-0,32	0,19	0,08	0,32	-0,83	0,32	0,08	-0,15	1,00	0,17
Mn	-0,07	0,23	0,67	0,08	0,55	0,35	0,61	-0,28	-0,22	0,09	0,68	0,17	1,00
ARENA	0,19	0,33	-0,30	0,35	-0,62	-0,50	-0,14	-0,04	-0,35	-0,46	0,10	-0,14	-0,27
LIMO	-0,17	-0,54	-0,11	-0,54	0,21	0,18	-0,32	0,23	0,51	0,41	-0,25	0,01	-0,14
ARCILLA	-0,09	0,24	0,72	0,20	0,81	0,66	0,77	-0,29	-0,17	0,21	0,21	0,25	0,71
XPRM_min2015	-0,33	0,41	0,49	0,05	0,18	0,21	0,70	-0,66	-0,38	-0,01	0,22	0,44	0,34
XPRM_máx2015	-0,49	-0,35	0,18	-0,45	0,37	0,06	0,16	-0,71	0,44	-0,01	-0,08	0,74	0,23
PRA_mm2015	-0,27	0,43	0,54	0,04	0,22	0,26	0,73	-0,61	-0,39	0,00	0,34	0,38	0,43
XT°MAX2015	0,08	-0,53	-0,41	-0,23	-0,08	-0,31	-0,58	0,21	0,49	0,07	-0,20	0,01	-0,31
ETP	0,14	-0,38	-0,49	0,10	-0,38	-0,45	-0,51	0,33	0,22	0,05	-0,20	-0,25	-0,33
P/ETP	0,11	0,36	0,49	0,00	0,20	0,39	0,43	0,00	-0,33	0,15	0,50	-0,07	0,30

Marín Ojeda, G., Silla-Cortés, F. Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis*

Anexo 1b

VARIABLES	AREN	LIMO	ARCIL	XPRM_ min2015	XPRM_ máx2015	PRAm 2015	XT ^o máx 2015	ETP	P/ETP	IQ	%TRPI	%TR	INEX	%INEX
DA_PL	0,19	-0,17	-0,09	-0,33	-0,49	-0,27	0,08	0,14	0,11	0,11	-0,02	-0,05	-0,23	-0,23
%TRPI	0,30	-0,30	-0,07	0,41	-0,27	0,40	-0,38	-0,17	0,34	0,31	1,00	0,91	-0,20	-0,20
%R_TOTAL	0,23	-0,13	-0,22	0,18	-0,30	0,17	-0,15	0,05	0,12	0,11	0,91	1,00	-0,29	-0,29
INEX	0,18	-0,14	-0,11	0,19	0,34	0,08	0,10	0,22	-0,25	0,26	-0,20	-0,29	1,00	1,00
%INEX	0,18	-0,14	-0,11	0,19	0,34	0,08	0,10	0,22	-0,25	0,26	-0,20	-0,29	1,00	1,00
IQ	0,69	-0,81	0,02	0,61	-0,17	0,57	-0,66	-0,50	0,42	1,00	0,31	0,11	0,26	0,26
pH	0,33	-0,54	0,24	0,41	-0,35	0,43	-0,53	-0,38	0,36	0,35	0,17	0,22	-0,30	-0,30
MatOrg.	-0,30	-0,11	0,72	0,49	0,18	0,54	-0,41	-0,49	0,49	0,19	0,09	-0,12	-0,23	-0,23
P	0,35	-0,54	0,20	0,05	-0,45	0,04	-0,23	0,10	0,00	0,37	-0,04	-0,09	-0,01	-0,01
Ca.2	-0,62	0,21	0,81	0,18	0,37	0,22	-0,08	-0,38	0,20	-0,23	-0,17	-0,22	-0,32	-0,32
Mg.2	-0,50	0,18	0,66	0,21	0,06	0,26	-0,31	-0,45	0,39	-0,28	-0,16	-0,28	-0,37	-0,37
K.	-0,14	-0,32	0,77	0,70	0,16	0,73	-0,58	-0,51	0,43	0,15	0,26	0,12	-0,22	-0,22
NA.	-0,04	0,23	-0,29	-0,66	-0,71	-0,61	0,21	0,33	0,00	-0,27	-0,11	-0,01	-0,24	-0,24
AL.H.	-0,35	0,51	-0,17	-0,38	0,44	-0,39	0,49	0,22	-0,33	-0,33	-0,31	-0,36	0,13	0,13
Cu	-0,46	0,41	0,21	-0,01	-0,01	0,00	0,07	0,05	0,15	-0,46	-0,25	-0,22	-0,18	-0,18
Zn	0,10	-0,25	0,21	0,22	-0,08	0,34	-0,20	-0,20	0,50	0,34	0,07	-0,01	-0,01	-0,01
Fe	-0,14	0,01	0,25	0,44	0,74	0,38	0,01	-0,25	-0,07	0,07	-0,21	-0,29	0,28	0,28
Mn	-0,27	-0,14	0,71	0,34	0,23	0,43	-0,31	-0,33	0,30	0,11	-0,18	-0,28	-0,05	-0,05
ARENA	1,00	-0,85	-0,52	0,33	-0,37	0,32	-0,50	0,00	0,03	0,69	0,30	0,23	0,18	0,18
LIMO	-0,85	1,00	-0,02	-0,61	0,32	-0,59	0,79	0,27	-0,18	-0,81	-0,30	-0,13	-0,14	-0,14
ARCILLA	-0,52	-0,02	1,00	0,35	0,19	0,34	-0,32	-0,43	0,24	0,02	-0,07	-0,22	-0,11	-0,11
XPRM_ min2015	0,33	-0,61	0,35	1,00	0,27	0,98	-0,73	-0,64	0,56	0,61	0,41	0,18	0,19	0,19
XPRM_ máx2015	-0,37	0,32	0,19	0,27	1,00	0,27	0,34	-0,17	-0,01	-0,17	-0,27	-0,30	0,34	0,34
PRA_mm 2015	0,32	-0,59	0,34	0,98	0,27	1,00	-0,72	-0,67	0,65	0,57	0,40	0,17	0,08	0,08
XT ^o máx 2015	-0,50	0,79	-0,32	-0,73	0,34	-0,72	1,00	0,61	-0,50	-0,66	-0,38	-0,15	0,10	0,10
ETP	0,00	0,27	-0,43	-0,64	-0,17	-0,67	0,61	1,00	-0,82	-0,50	-0,17	0,05	0,22	0,22
P/ETP	0,03	-0,18	0,24	0,56	-0,01	0,65	-0,50	-0,82	1,00	0,42	0,34	0,12	-0,25	-0,25

Anexo 2



Gymnopus aquosus (Bull.) Antonín & Noordel. (Agaricales – Omphalotaceae): nuevo registro para la micobiota de Paraguay

Martínez, M.^{1*} & Niveiro, N.²

¹Becaria Doctoral Latinoamericana, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina. Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico – Esquel, Argentina

²Instituto de Botánica del Nordeste. Sgto. Cabral 2131, C.C. 209, CP: 3400, Corrientes, Argentina

*Email del autor: mariby9@gmail.com

***Gymnopus aquosus* (Bull.) Antonín & Noordel. (Agaricales – Omphalotaceae): nuevo registro para la micobiota de Paraguay.** *Gymnopus* es un género diverso que se distribuye por el mundo con aproximadamente 300 especies, sin embargo, en base a estudios previos, para Paraguay solo se conoce una especie. El objetivo del presente trabajo es describir, ilustrar y discutir a *G. aquosus*, encontrada en el departamento Central de Paraguay. Esta especie se caracteriza por sus basidiomas higrófanos, de castaño a amarillo claro, el estípite con la base ensanchada, y queilocistidios cilíndricos a claviformes. Se diferencia de *G. dryophilus* porque esta presenta queilocistidios diverticulados, y de *G. subaquosus*, porque esta última posee caulocistidios, los cuales no fueron observados en los especímenes coleccionados.

Palabras claves: Micobiota, *Gymnopus*, *Collybia*, Paraguay.

***Gymnopus aquosus* (Bull.) Antonín & Noordel. (Agaricales – Omphalotaceae): new record for Paraguay.** *Gymnopus* is a diverse genus that is distributed around the world with approximately 300 species, however, based on previous studies, only one species is known for Paraguay. The aims of this paper is to describe, illustrate and discuss *G. aquosus*, found in the Central Department of Paraguay. This species is characterized by its brown to light yellow hygrophanous basidiomes, a stipe with a widened base, and cylindrical to claviform cheilocystidia. The reported species differs from *G. dryophilus* in that the latter has diverticulated cheilocystidia, and from *G. subaquosus*, in the fact that the latter has caulocystidia, which were not observed in the collected specimens.

KeyWords: Micobiota, *Gymnopus*, *Collybia*, Paraguay

INTRODUCCIÓN

La diversidad fúngica a nivel mundial se ha estimado en aproximadamente 1.500.000 especies de hongos, de los cuales se conocen 63.000 especies (Villalobos-Zapata & Mendoza Vega, 2010). Los primeros estudios sobre hongos para el país datan del siglo XIX (Spegazzini, 1888), y a partir de esos, recién en la década del 90 se retoma la investigación de los macrohongos en Paraguay (Zanotti-Cavazzoni, 1996; Gullón, 2011) y más recientemente Campi *et al.* (2013) presentan un compendio sobre los Hongos

de la Reserva Laguna Blanca.

Respecto a los Agaricales, estudios recientes han aumentado considerablemente el conocimiento de la diversidad de este grupo de organismos en el país (Flecha *et al.*, 2013, 2014; De Madrignac *et al.*, 2013; Campi & Maubet, 2015, 2016; Campi *et al.*, 2015, 2016, 2017; Maubet *et al.*, 2017), conociéndose un total de 148 especies de hongos agaricoides para Paraguay (Flecha & Niveiro, 2018).

Gymnopus es un hongo agaricoide, perteneciente a la familia Omphalotaceae, de distribución cosmopolita, con aproxi-

madamente 300 especies. Surge de la división de *Collybia* propuesta por Antonin *et al.* (1997), el cual en base a caracteres de pileipellis, color de la esporada y superficie del estípite, los divide en tres géneros bien delimitados: *Collybia*, *Gymnopus* y *Rhodocollybia* (Mata *et al.*, 2004).

Gymnopus se caracteriza por tener basidiomas coliboides, rara vez tricolomatoides o marasmioides, con píleo convexo a aplanado, con la superficie seca a ligeramente viscosa, glabra o con fibrillas radialmente innatas, apretadas u ocasionalmente distantes, con estípite central, liso o estriado, usualmente esbelto con corteza cartilaginosa y con micelio basal (Murril, 1916; Antonin *et al.*, 2013). Las basidiosporas forman una esporada blanca, son elipsoidales a lacrimoides, de paredes delgadas hialinas, y sus queilocistidios son cilíndricos a claviformes, generalmente flexuosos o coraloides. Uno de los caracteres más determinantes para identificar a *Gymnopus* es la pileipellis, la cual está conformada por un cutis o ixocutis de hifas cilíndricas dispuestas radialmente, con elementos terminales lisos a coraloides irregulares (Antonin *et al.*, 1997).

Actualmente, Flecha & Niveiro (2018) en base a datos bibliográficos, citan cinco especies de *Collybia* para Paraguay: *Collybia aurantiella* (Speg.) Speg., *Collybia brasiliensis* (Berk. & Mont.) Dennis, *Collybia micheliana* (Fr.) Qué., *Collybia muscigena* (Schumach.) P. Karts., y *Collybia nivea* (Mont.) Dennis (Spegazzini, 1888; Perla *et al.*, 2014), además de una especie de *Gymnopus*: *G. peronatus* (Bolton) Gray, (Spegazzini, 1919). Sin embargo, la especie identificada en este trabajo como *G.*

aquosus aún no es conocida para el país, por lo que el objetivo del presente trabajo es describir esta especie en base a los materiales encontrados en Paraguay, ilustrarla y discutir las diferencias con las especies próximas.

MATERIALES Y METODOS

Los ejemplares colectados fueron fotografiados y descritos macroscópicamente *in vivo*, teniendo en cuenta las características organolépticas (olor, sabor, consistencia, etc.). Para la identificación del ejemplar se utilizaron claves dicotómicas de diferentes fuentes bibliográficas (Murril, 1916; Guzmán, 1977; Antonin, 1997), en cuanto a la designación de colores (ej.: 5C5) se realizaron de acuerdo a Kornerup y Wanscher (1983).

Para las descripciones microscópicas se ha seguido el método de examinación estándar para Agaricales (Wright & Albertó, 2002). Se realizaron cortes a mano alzada, montados en KOH (5%) y Rojo Congo amoniacal (1%) para la observación de hifas, basidios y cistidios. La reacción de las esporas se analizó con el Reactivo de Melzer al 1%. Para la medición de las estructuras microscópicas, se realizaron 15 cuantificaciones, a un aumento de 100x. Las medidas se dan en rangos y fueron utilizadas las siguientes notaciones: \bar{x} = media aritmética del largo y ancho de las esporas, Q = cociente de la longitud y anchura de las esporas, $Q\bar{x}$ = media de los valores Q , n = número de esporas y N = número de individuos (Niveiro *et al.*, 2012). Se fotografiaron todos los elementos de valor taxonómico.

Las colecciones fueron deshidratadas y depositadas en la micoteca del Herbario

Martínez M., Niveiro N. "Gymnopus aquosus" nuevo registro para la micobiota de Paraguay

del Laboratorio de Recursos Vegetales de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Gymnopus aquosus (Bull.) Antonín & Noordel., in Antonín, Halling & Noordeloos, Mycotaxon 63: 363 (1997) (Fig. 1)

= *Agaricus aquosus* Bull., Herb. France pl. 17. 1780-1781.

= *Collybia aquosa* (Bull.) P. Kumm., Fuhr. Pilzk (Zerbst): 114 (1871).

Píleo 20–38 mm diám., convexo a plano, con el centro subumbonado a levemente deprimido, higrófono, castaño claro (6D6 a 6E6) aclarándose hacia el margen, de marrón anaranjado (5C5) hasta amarillo pálido (4A3) a amarillo blanquecino (4A2), superficie lisa, translúcidamente estriado en el margen que se extiende un poco hasta el umbo, levemente ondulado a algo surcado. **Laminillas** adnatas, próximas, 2–4 laminillas por centímetro, delgadas, de hasta 3 mm de ancho, de color blanquecino a crema, con lamélulas bien distinguibles de hasta tercer orden. Contexto delgado a algo carnoso, de color blanquecino. Olor agradable y sabor indistinguible. **Estípite** central, 30–40 × 4–6 mm, cilíndrico, con la base ensanchada, flexible, finamente fibrilloso, de amarillo pálido (4A3) con tonos anaranjado claro (5A4) con un leve oscurecimiento en la base llegando a marrón anaranjado claro (5B6, 5C6) en algunos ejemplares; rizomorfo blanque-

cino a ocráceo en la base del estípite. **Esporada** blanca.

Esporas 5–7,5 (-8) × 3–4 μm; x= 6,5 × 3,3 μm; Q= 1,5–2,6; Qx= 1,95; N= 3 n= 30; elipsoidales a cilíndricas; de paredes delgadas, lisas, hialinas, inamiloides, con gúttulas (Fig. 2a). **Trama lamelar** paralela, hifas de 3,5–10 (-15) μm diám, de paredes delgadas (Fig. 2 d). **Basidios** claviformes, tetraspóricos con esterigmas de 4–6 μm de long. 18–20 × 5–6 μm (Fig. 2b). **Queilocistidios** 17–40 × 3,5–12 μm, cilíndricos a delgadamente claviformes (Fig. 2c). **Pleurocistidio** no observados. **Pileipellis** formada por hifas de pared delgada de aproximadamente unos 2,5–20 μm de diámetro. **Caulocistidios** y **pileocistidios** no observados. **Fíbulas** presentes en todas las estructuras.

Hábitat: Gregarios, connados, en el suelo sobre césped en zona urbana. Colectado en Otoño. Esta especie también se puede encontrar en Primavera.

Material estudiado: PARAGUAY, Central, San Lorenzo, Campus Universitario San Lorenzo, 25°20'13,24" S 57°31'17,18" W, Marzo 2014, leg. Martínez, M. 06; Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN).

Distribución: *Gymnopus aquosus* está ampliamente distribuida en Europa, y este de Norteamérica (GBIF, 2019). En Sudamérica, se encuentra citada solo para Argentina (Raithelhuber, 1992; Niveiro & Albertó, 2013).

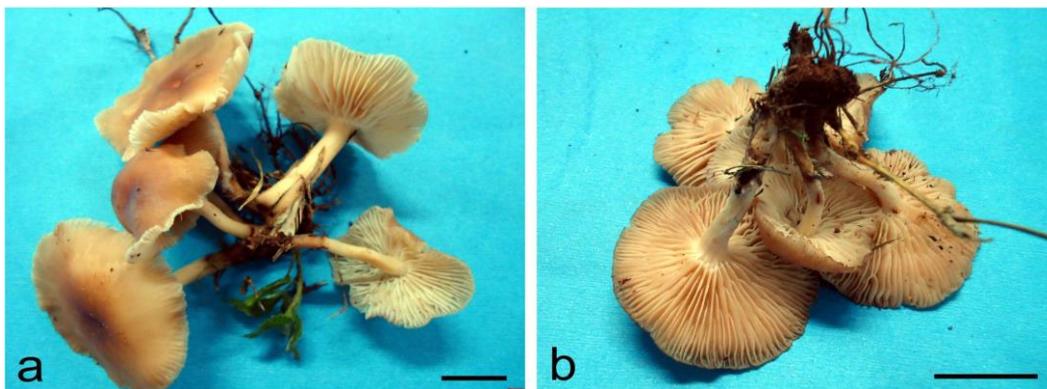


Fig. 1. Basidiomas de *G. aquosus* (MM 06). **a.** vista del pileo, **b.** vista del pie y laminillas. Escala: 20 mm.

Obs.: El material estudiado pertenece a la set. *Levipedes* (Fr.) Halling emend. subsect. *Levipedes* Antonin, Halling & Noordel., por características como el estípite liso y la pileipellis formada por una estructura tipo *dryophila*, formada por hifas cilíndricas, delgadas (menos de 20 μm , diam), con abundantes ramificaciones irregulares (Vilgalys & Miller, 1987; Meijer, 2008). *Gymnopus* sect. *Levipedes* fue descrito para el neotropico por Halling (1996), por lo que la especie aquí mencionada se encuentra dentro de dicha sección.

Gymnopus aquosus se caracteriza por sus basidiomas higrófanos, de color castaño claro a amarillo claro, con la superficie transparentemente estriada hasta el umbo, el estípite cilíndrico, con la base ensanchada, y queilocistidios cilíndricos a claviformes (Vilgalys & Miller, 1987; Antonín, 1997, 2013).

Esta especie es fácil de confundir con *Gymnopus dryophila*, la cual se diferencia por sus coloraciones más oscuras y queilocistidios delgados, similares a hifas,

con paredes diverticuladas (Vilgalys & Miller, 1987; Kibby 2006).

Otra especie muy próxima es *Gymnopus subaquosus* De Meijer, recientemente descubierta en Brasil, asociada a *Araucaria angustifolia*. A diferencia del material estudiado, *G. subaquosus* presenta caulocistidios cilíndricos, con protuberancias o ramificaciones apicales, queilocistidios levemente diverticulados y laminillas más delgadas, de hasta 3 mm (vs. 3–5 mm en especímenes europeos) (Meijer, 2008). Si bien, el material encontrado en Paraguay coincide con el material de *G. subaquosus* en el ancho de las laminillas (hasta 3 mm), éste podría ser un carácter variable, y al no haber observado caulocistidios, carácter diagnóstico para *G. subaquosus*, consideramos que la especie aquí identificada forma parte del concepto de *G. aquosus*. Sin embargo, estas dos especies, junto con *G. dryophila*, forman un complejo de especies similares entre sí, y habría que considerar estudiar nuevas colecciones de Sudamérica, para corroborar cuales son las especies presentes.

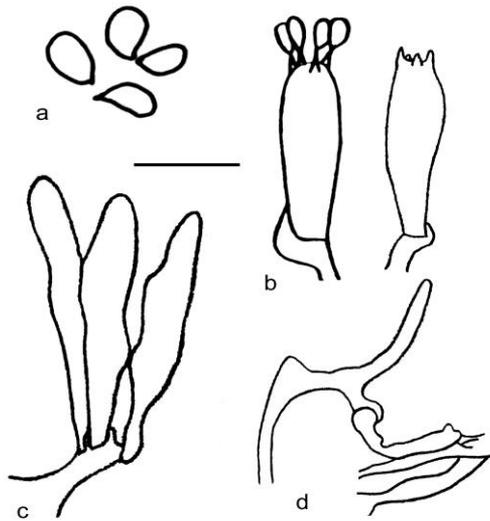


Fig. 2. Elementos microscópicos de *G. aquosus* (MM 06). **a.** esporas, **b.** basidios, **c.** queilocistidios, **d.** hifas de la trama. Escala: 10 μ m.

Gymnopus peronatus (Bolton) Gray, fue identificado por Spegazzini (1919) para Paraguay, pero es una especie que por su estípite enraizado y superficie pilosa en la base (Bolton, 1788; Gray, 1821) forma parte de la sección *Vestipedes* (Antonin *et al.*, 1997).

Por otra parte, es importante mencionar que el hábitat donde se ha encontrado el espécimen comparte ciertas características al ambiente de Europa y Argentina; por lo que la aparición de ciertas especies nuevas en un país, podría deberse a especies arbóreas introducidas, así como por otros mecanismos de dispersión. He aquí la importancia de describir nuevas especies que ayuden a entender la biodiversidad, distribución y su conservación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antonin, V. & Noordeloos, M.E. (1997). A monograph of *Marasmius*, *Collybia* and related genera in Europe. Part.2 *Collybia*, *Gymnopus*, *Rhodocollybia*, *Crinipellis*, *Chaetocalathus* and additions to *Marasmiellus*. Libri botanici Vol.17. Eching bei Munchen, Alemania: IHW-Verlag.
- Antonin, V.; Sedlak, P. & Tomsovsky, M. (2013). Taxonomy and phylogeny of European *Gymnopus* subsection *Levipedes* (Basidiomycota, Omphalotaceae). *Persoonia* 31: 179–187. doi:10.3767/003158513X674043
- Bolton, J. (1788). *An History of Fungusses, Growing about Halifax*. 2: 45-92. London: printed for the autor.
- Campi, M.; De Madignac, B.; Flecha, A.; Ortellado, A.; Martínez, M. & Rojas, L. (2013). *Hongos de la Reserva Natural Laguna Blanca*. San Lorenzo, Paraguay: FACEN.
- Campi, M.; De Madignac, B.; Flecha, A. & Niveiro, N. (2015). El género *Leucocoprius* Pat. (Agaricaceae-Agaricomycetes) para el norte de Argentina y Paraguay. *Iheringia, Botánica* 70: 309-320.
- Campi, M. & Maubet, Y. (2015). *Cyathus poeppigii* (Agaricales, Basidiomycetes): nuevo registro para Paraguay. *Steviana* 7: 74-78.
- Campi, M. & Maubet, Y. (2016). Nuevos registros de *Calvatia rugosa* (Berk. & M.A. Curtis) D.A. Reid y *Vascellum pampeanum* (Speg.) Homrich (Agaricaceae-Basidiomycota) en Paraguay. *Steviana* 8: 43-49.
- Campi, M.; Miranda, B. & Maubet, Y. (2016). *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers. (Agaricaceae Basidiomycota),

- hongo de interés medicinal y gastronómico, nueva cita para el Paraguay. *Steviana* 8: 68-74.
- Campi, M.; Maubet, Y.; Miranda, B.; Armoa, J. & Cristaldo, E. (2017). Dos nuevas citas de Mycenaceas para el Paraguay: *Xeromphalina tenuipes* & *Filoboletus gracilis*, un interesante agarical poroide. *Steviana* 9: 16-24.
- De Madrignac, B.; Campi, M.; Flecha, A. & Ortellado, A. (2013). Nuevos registros del genero *Marasmius* (Basidiomycota – Marasmiaceae) para la región de la Reserva Natural Laguna Blanca, San Pedro – Paraguay. *Reportes Científicos de la FACEN* 4 (2): 5-10.
- Flecha, A.; De Madrignac, B. & Campi, M. (2013). Nuevo Registro de *Leucoagaricus lilaceus* Singer (Agaricomycetes - Agaricaceae) para Paraguay. *Reportes Científicos de la FACEN* 4: 11-14.
- Flecha, A. (2014). El género *Pleurotus* (Pleurotaceae-Basidiomycota) en Paraguay. *Steviana* 6: 70-79.
- Flecha, A. & Niverio, N. (2019). Checklist of the agaricoid fungi from Paraguay. *Mycotaxon* 133: 729. doi: <https://doi.org/10.5248/133.729>
- Gray, S.F. (1821). A natural arrangement of British plants. 1: 1-824. London: Baldwin, Cradock, and Joy
- Gullón, M. (2011). Hongos superiores del Refugio Tati Yupi. *Biota* 15: 1-68.
- Guzmán, G. (1977). *Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera*. Limusa, México, D. F. 452 p.
- Halling, R.E. (1996). Notes on *Collybia* V. *Gymnopus* section *Levipedes* in tropical South America, with comments on *Collybia*. *Brittonia* 48: 487-494. doi: [10.2307/2807862](https://doi.org/10.2307/2807862)
- Kornerup, A. & Wanscher, J. H. (1983). *Methuen handbook of colour*. Ed. 3. London: Eyre Methuen
- Kibby, G. (2006). Fungal Portraits No. 25: *Gymnopus* (= *Collybia*) *aquosus*. *Field Mycology* 7(1): 3-4. doi: [10.1016/S1468-1641\(10\)60345-3](https://doi.org/10.1016/S1468-1641(10)60345-3)
- Murril, W.A. (1916). Agaricaceae. *North American Flora* 9(5): 352.
- Mata, J.; Halling, R. & Petersen, R. (2004). New species and mating system reports in *Gymnopus* (Agaricales) from Costa Rica. *Fungal Diversity* 16: 113-129.
- Meijer, A.A.R. (2008). Macrofungos nota-veis das florestas de pinheiro-do-para-ná. Colombo, Brasil: Embrapa Flores-tas.
- Maubet, Y.; Campi, M.; Armoa, J. & Cristaldo, E. (2017). Nuevas citas de *Cyathus* Haller (Agaricaceae, Basidiomycetes) para Paraguay y ampliación de la distribución del género. *Steviana* 9: 31-39.
- Niveiro, N.; Popoff, O. F.; Desjardin, D. & Albertó, E. O. (2012). *Mycena moconensis*, a new species of section *Polyadelphia* from Argentina. *Mycotaxon* 119: 167-173. doi: [10.5248/119.167](https://doi.org/10.5248/119.167)
- Niveiro, N. & Alberto, E. (2013). Checklist of the Argentine Agaricales 4. Tricholomataceae and Polyporaceae. *Mycotaxon* 121: 499. doi: [10.5248/121.499](https://doi.org/10.5248/121.499)
- Perla, H.O. (2014). Guía alfabética de especies de hongos publicadas por Carlos Luis Spegazzini. *ProBiota, Serie Documentos* 34: 1-264.

**Martínez M., Niveiro N. “Gymnopus aquosus” nuevo registro
para la micobiota de Paraguay**

- Raithelhuber, J. (1992). Agaric flora of South America (6). *Metrodiana* 20 (4): 151–200.
- Spegazzini, C.L. (1888). Fungi Guaranitici. Pugillus 2. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 26 (1): 5-74
- Spegazzini, C. (1919). Reliquiae Mycologicae e Tropicae et Fungí Costaricenses Nonnulli. *Boletín de la Academia de Ciencias Córdoba* 23 (3-4): 365-609.
- Vilgalys, R. & Miller, O. (1987). Morphological studies on the *Collybia dryophila* group in Europe. *Transactions of the British Mycological Society*. 88(4): 461-472.[doi.org/10.1016/S0007-1536\(87\)80029-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(87)80029-3)
- Villalobos-Zapata, G. J. & Mendoza Vega J. (2010). *La Biodiversidad en Campeche: Estudio de Estado*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (conabio), Gobierno del Estado de Campeche, Universidad Autónoma de Campeche, Mexico: El Colegio de la Frontera Sur.
- Wright, J. E. & Albertó, E. (2002). *Guía de hongos de la región pampeana. I. Hongos con laminillas*. Buenos Aires, Argentina: L.O.L.A.
- Zanotti-Cavazzoni, J.C. (1996). Screening de Hongos Comestibles que crecen en Paraguay. *Revista de Ciencia y Tecnología-Dirección de Investigación, UNA* 1 (2): 85-89.

Morfología de los granos de polen de especies de la familia Acanthaceae presentes en el Cerro koi, Areguá, Departamento Central, Paraguay

Marchi, P.^{1*}; Delmás G.²

¹Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Laboratorio de Recursos Vegetales. San Lorenzo - Paraguay

²Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Biología. San Lorenzo - Paraguay

*E mail del autor: pamepy@gmail.com

Morfología polínica de algunas especies de la familia Acanthaceae del Cerro koi. El Monumento Natural Cerro Koi es un área protegida que se encuentra en el Departamento Central del Paraguay. Cuenta con una extensión de 12 hectáreas. Presenta 116 especies vegetales distribuidas en 40 familias botánicas. En este trabajo se describe la morfología polínica de las cuatro especies botánicas pertenecientes a la familia Acanthaceae presentes en el sitio, con la finalidad de constituir una base de referencia para posteriores estudios que puedan llevarse a cabo en el área de palinología en el país. Los granos de polen fueron procesados siguiendo métodos convencionales, las observaciones y descripciones morfométricas se realizaron con ayuda del microscopio óptico. En total se describieron los granos de polen de cuatro especies: *Justicia brasiliana*, *Justicia ramulosa*, *Justicia rusbyi* y *Streblacanthus dubiosus*. Los granos de polen de las especies pertenecientes al género *Justicia* presentan simetría bilateral, exina tectada suprareticulada e islas de exina que varían en número, distribuidas por la superficie. La única especie de *Streblacanthus* sin embargo presenta simetría radial y exina semitectada reticulada.

Palabras clave: polen, morfología, sistemática vegetal.

Pollen morphology of some species of the Acanthaceae family of Cerro koi. The Cerro Koi Natural Monument is a protected area located in the Central Department of Paraguay. It has a 12 hectare area and 116 plant species distributed in 40 botanical families. This paper describes the pollen morphology of the botanical species belonging to the Acanthaceae family present on the site, with the purpose of constituting a reference base for further studies that can be carried out in the field of palynology in the country. Pollen grains were processed following conventional methods, morphometric observations and descriptions were made with the help of the optical microscope. In total, pollen grains of four species were described: *Justicia brasiliana*, *Justicia ramulosa*, *Justicia rusbyi* and *Streblacanthus dubiosus*. The pollen grains of the species belonging to the genus *Justicia* have bilateral symmetry, supra-cross-linked exine and exine islands that vary in number, distributed over the surface. The only species of *Streblacanthus*, however, has radial symmetry and reticulated semi-connected exine.

Keywords: pollen, morphology, plant systematics.

INTRODUCCIÓN

El Cerro Koi es un área silvestre protegida que se encuentra bajo categoría de manejo de Monumento Natural (Ley N°179, 1993). Presenta una extensión de

doce hectáreas y es conocida por su formación de areniscas columnares (Roche, 2014). Se encuentra al sur-este del centro del distrito de Areguá, capital del departamento Central-Paraguay.

Steviana, Vol. 11 (2), 2019 pp. 48 – 55

Original recibido el 30 de mayo de 2019

Aceptado el 04 de febrero de 2020

Soria & Basualdo (2004) registran para el Cerro Koi y Chorori 116 especies vegetales, distribuidas en 40 familias botánicas, siendo la familia Acanthaceae de particular interés por su potencial uso ornamental.

La familia Acanthaceae es pantropical, presenta plantas comúnmente con hábito arbustivo y herbáceo, de flores llamativas con cáliz 4-5 lobulado y corola bilabiada, estambres generalmente en número de 2 a 4, con anteras dorsifijas, a veces con estaminodios (Ezcurra, 1999, Zomlefer, 1994).

En Paraguay, se tienen registros de aproximadamente 30 especies del género *Justicia* L., con distribución en la región Oriental y Occidental del país. Para el género *Streblacanthus* Kuntze sin embargo, se registra solo una especie en la región Oriental del país.

En este trabajo, se realiza el estudio de la morfología de los granos de polen de tres especies del género *Justicia* L. y una del género *Streblacanthus* Kuntze.

El grano de polen es la estructura reproductiva masculina de las plantas superiores. Se encuentra rodeado de una gruesa pared que lo protege del ataque microbico, la desecación y la radiación solar (Molina, 2004). Sus características morfo-métricas permiten la identificación de grupos taxonómicos (Pire et al., 1998).

Pire et al (2006) describe la morfología polínica de la familia Acanthaceae como euripalínica, con granos de polen muy diferentes entre ellos, de 2-4 colporados a 3 colporados y 2-6 porados, con simetría radial o bilateral y, dimensiones que van de mediano a grande. En Argentina y Brasil se han llevado a cabo descripciones morfo-métricas de granos de polen de especies pertenecientes a los géneros *Dicliptera*

Juss., *Dyschoriste* Ness, *Geissomeria* Lindl., *Hygrophila* R. Br., *Justicia* L., *Poikilacanthus* Lindau, *Ruellia* L., *Stenandrium* Nees, y *Streblacanthus* Kuntze

MATERIALES Y MÉTODOS

Para las colectas botánicas se realizaron recorridos aleatorios al interior de las formaciones vegetales, se tomaron fotografías de las flores con una cámara fotográfica modelo Nikon D5100, previa colecta. Los ejemplares colectados fueron identificados con el apoyo de ejemplares de herbario y el uso de claves de identificación taxonómicas. Las características taxonómicas y morfológicas de cada ejemplar como mediciones de flores, hojas y peciolo para la descripción del material botánico, fueron corroboradas con previas descripciones hechas para las especies con distribución en Paraguay y Argentina. La nomenclatura fue actualizada según la base de datos *online* de Trópicos y Darwinion. Se colectaron las especies *Justicia brasiliiana* Roth., *Justicia ramulosa* (Morong) C. Ezcurra, *Justicia rusbyi* (Lindau) V.A.W. Graham y *Streblacanthus dubiosus* (Lindau) V.M.Baum.

De las especies colectadas e identificadas se obtuvieron los granos de polen directamente de las anteras de las flores abiertas, que fueron procesados siguiendo la técnica de acetólisis de Erdtman (1960), posteriormente fueron montados en un portaobjetos con glicerina glicerina y sellados con parafina para su observación al microscopio.

Los preparados palinológicos obtenidos se depositaron en el herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de

Marchi, P; Delmás, G. Morfología de los granos de polen de especies de Acanthaceae del Cerro koi, Areguá, Paraguay

la Universidad Nacional de Asunción (FACEN-UNA) catalogados con la sigla PAL-FACEN-UNA. Los especímenes de herbario de las colectas, se encuentran depositados en el herbario de la FACEN-UNA y en el herbario de la FCQ-UNA.

Para la observación, descripción y medición de los granos de polen se utilizó el microscopio óptico (M.O) ZEISS, modelo Primo Star. Se obtuvieron microfotografías de los granos de polen con un aumento de 1000x, utilizando la cámara incorporada al M.O Axiocam ERc 5s.

Para la descripción de la morfología polínica de las cuatro especies se analizaron y midieron en los granos de polen los siguientes parámetros: eje polar (P), diámetro ecuatorial (E) y relación P/E

para la forma, así como el espesor de la exina. El tamaño fue establecido en base a la longitud del eje más largo, la forma sin embargo fue determinada en base a la relación P/E. Para todos los caracteres analizados, se realizaron mediciones en 25 granos de polen. Se describieron además la escultura y el tipo de apertura. La terminología utilizada es la propuesta por Erdtman (1966) y Punt et al (2007).

RESULTADOS

Justicia brasiliana Roth (Figura 1)

Descripción botánica: Subarbusto de aproximadamente 30 cm de altura. Hojas simples, con pelos cortos en el haz y envés, láminas lanceoladas de 3,5-9 x 1,3-

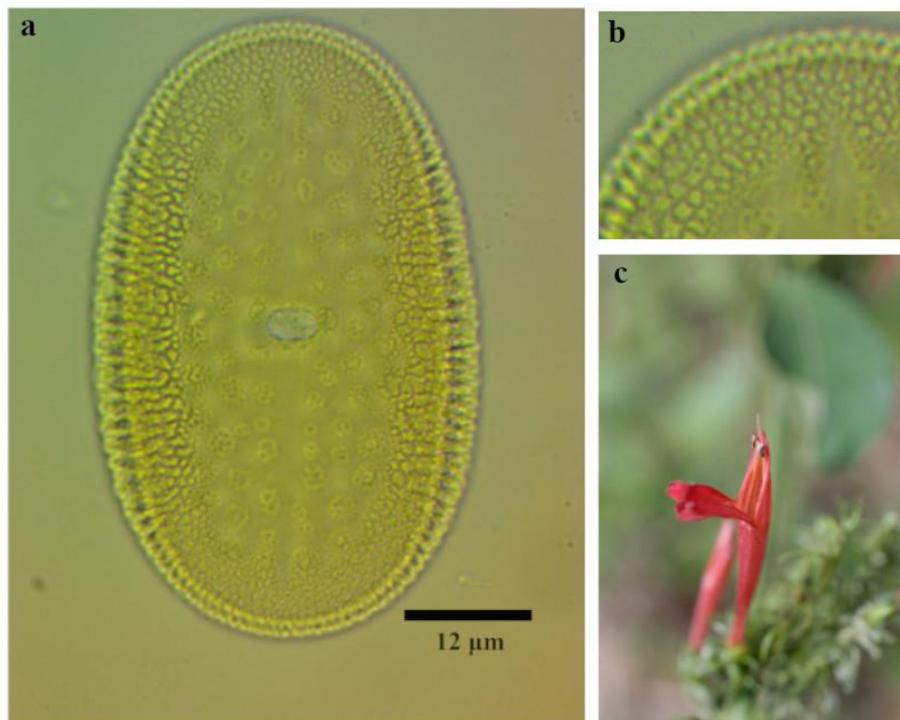


Figura 1: *J. brasiliana* Roth a) Grano de polen, vista ecuatorial (1000x), b) Detalle del retículo de la exina, b) Flor (c. 3 cm de largo)

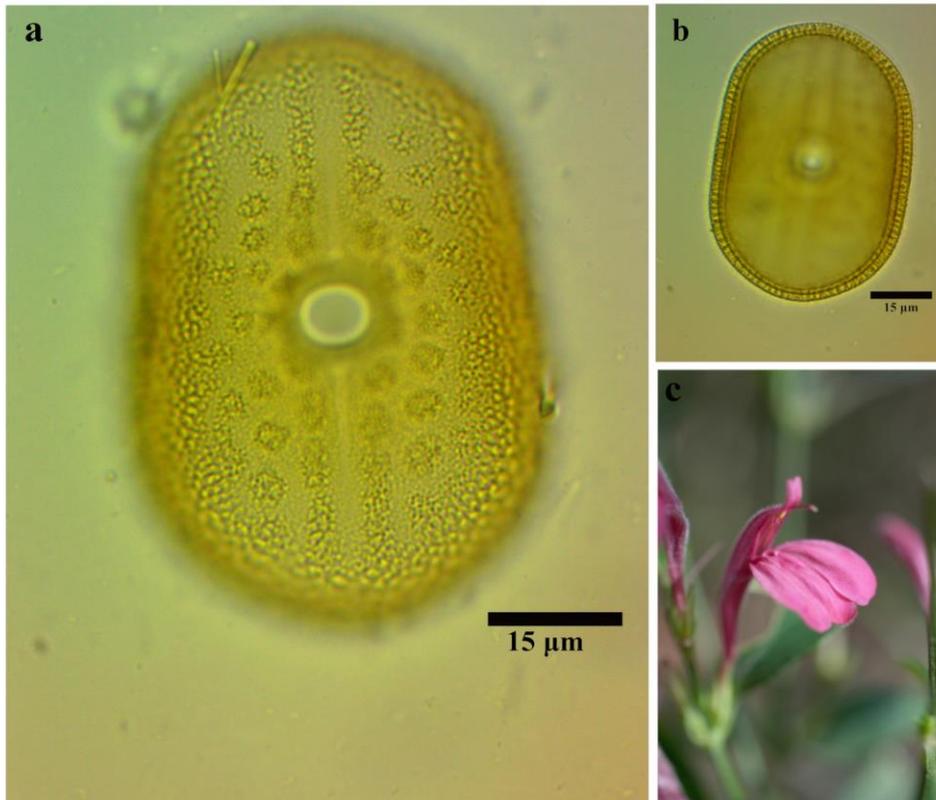


Figura 2: *J. ramulosa*. a) Grano de polen, vista ecuatorial en foco superior (1000x), b) Grano de polen, vista ecuatorial en corte óptico (1000x), c) Flor (c. 2.5 cm de largo)

3,5 cm, borde liso, base y ápice agudos, peciolo cortos de 0,5 cm. Flores sésiles, cáliz de 0,4 cm, corola de aproximadamente 3 cm de largo, de color rojo, angostas, dispuestas en inflorescencias terminal en espigas.

Descripción palinológica: Polen isopolar, con simetría bilateral, de tamaño grande y forma de prolato a perprolato. Exina semitectada reticulada, con 2.3 (1.6 -3.1) µm de espesor. Nexina con espesor de 0.9 (0.4 - 1.4) µm y sexina con espesor de 1.4 (0.9 -1.9) µm. Presenta 4 a 5 filas longitudinales de islas de exina. Cada fila con más de 10 islas de exina.

Apertura 2-colporado, con poro circular.

Dimensiones: P= 65,8 (49,7-81,9) µm, E= 36,7 (26,9 -46,6) µm, P/E= 1,7 (1,5-2) µm.

Material de referencia: CENTRAL: Monumento Natural Cerro Koi [25°20'10''S; 57°34'26'' W] 12/XI/2018. Marchi, P.71. (FCQ-UNA). Lámina palinológica: PAL-FACEN-UNA 001

***Justicia ramulosa* (Morong) C. Ezcurra** (Figura 2)

Descripción botánica: Subarbusto de aproximadamente 30 cm de altura. Hojas

Marchi, P; Delmás, G. Morfología de los granos de polen de especies de Acanthaceae del Cerro koi, Areguá, Paraguay

simples, con pelos cortos en los nervios principales del envés, glabras en el haz, láminas elípticas de 2,5-6 x 1,6-2,5 cm, borde liso, base y ápice agudos, peciolos cortos de 0,5-0,7 cm. Flores sésiles, cáliz de 0,6 cm, con corola de 2,5 cm de largo, de color rosado-oscuras, angostas, dispuestas en inflorescencias terminal y axilar.

Descripción palinológica: Polen isopolar, con simetría bilateral, de tamaño grande y forma de subprolato a prolato. Exina semitectada reticulada, con 2,9 (2-3,8) μm de espesor. Nexina con espesor de 1 (0,7 – 1,3) μm y sexina con espesor de 1,8 (1-2,6) μm . Presenta 4-5 filas longitudinales de islas de exina. Cada fila con 6-8 islas de exina.

Descripción palinológica: Polen isopolar, con simetría bilateral, de tamaño grande y forma de subprolato a prolato. Exina semitectada reticulada, con 2,9 (2-3,8) μm de espesor. Nexina con espesor de 1 (0,7 – 1,3) μm y sexina con espesor de 1,8 (1-2,6) μm . Presenta 4-5 filas longitudinales de islas de exina. Cada fila con 6-8 islas de exina.

Apertura 2-colporado, con poro circular.

Dimensiones: P= 61,7 (53,2 – 67,9) μm , E= 44,8 (33,9-97,7) μm , P/E= 1,3 (1.1 - 1.6) μm .

Material de referencia: CENTRAL: Monumento Natural Cerro Koi [25°20'10''S; 57°34'26'' W] 15/IV/2018. Marchi, P.150. (FCQ-UNA). Lámina palinológica: PAL-FACEN-UNA 014

***Justicia rusbyi* (Lindau) V.A.W. Graham** (Figura 3)

Descripción botánica: Subarbusto de aproximadamente 90 cm de altura. Hojas simples, pubescentes, láminas ovadas de

3-12 x 2-6 cm, borde entero, base y ápice agudos, peciolos largos de 1,5 cm. Flores sésiles, cáliz de 0,5 cm, con corola de 3,5 cm de largo, de color lila, angostas, dispuestas en inflorescencias terminal y axilar.

Descripción palinológica: Polen isopolar, con simetría bilateral, de tamaño grande a muy grande y forma prolato. Exina semitectada reticulada, con 1,1 (0,5-1,6) μm de espesor. Presenta 4 filas longitudinales de islas de exina. Cada fila con 9-11 islas de exina.

Apertura 2-colporoidato, con poro circular.

Dimensiones: P= 93,5 (76,9-109,7) μm , E= 57,2 (46,8-67) μm , P/E= 1,6 (1,4-1,8) μm .

Material de referencia: CENTRAL: Monumento Natural Cerro Koi [25°20'10''S; 57°34'26'' W] 15/IV/2018. Marchi, P.123A. (FCQ-UNA). Lámina palinológica: PAL-FACEN-UNA 013

***Streblacanthus dubiosus* (Lindau) V.M.Baum** (Figura 4)

Descripción botánica: Subarbusto de aproximadamente 60 cm de altura. Hojas simples, con pubescencia abundante en el haz y envés, láminas ovadas de 3,5-6,5 x 1,5-4 cm, borde liso, base y ápice agudos, peciolos cortos de 0,5 cm. Flores sésiles, cáliz de 0,7 cm, con corola de 3,1 cm de largo, de color lila, largo y angosto, tubo de la corola de tamaño constante, dispuestas en inflorescencias terminales.

Descripción palinológica: Polen isopolar, con simetría radial, de tamaño grande y forma prolato esferoidal a subprolato. Ámbito subtriangular. Exina semitectada reticulada, con 2,2 (1,6-2,8) μm de espesor. Nexina con espesor de 0,9 (0,6 – 1,1) μm y sexina con espesor de 1,3 (0,9 -

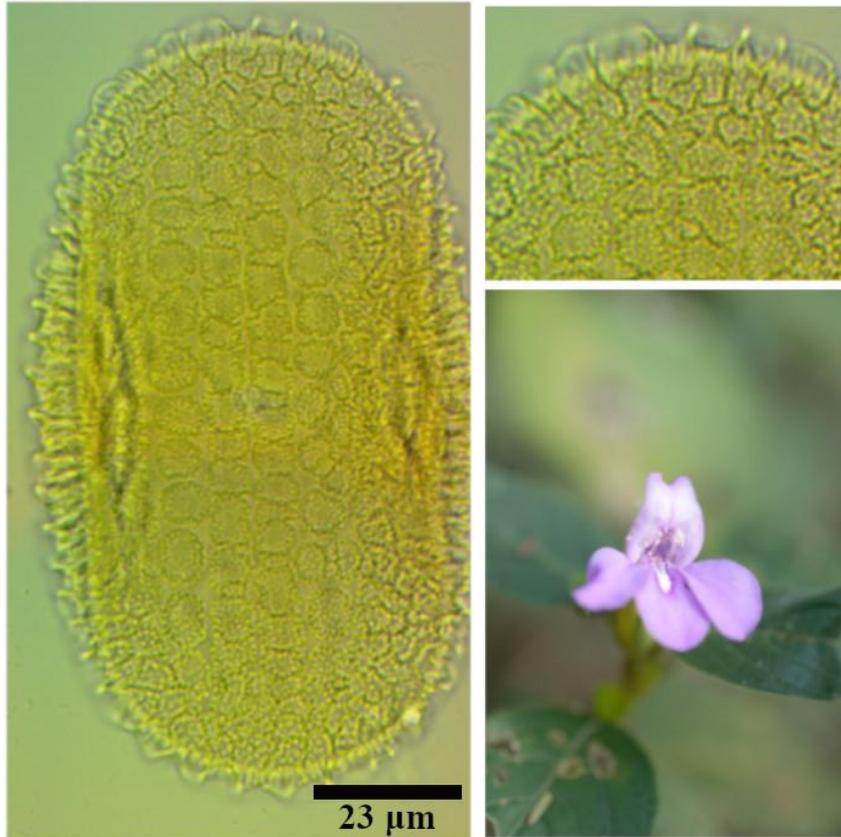


Figura 3: *J. rusbyi*. a) Grano de polen, vista ecuatorial (1000x), b) Detalle del retículo de la exina, c) Flor (c. 3.5 cm de largo)

1,7) μm

Apertura: Heterocolpado, con 3-colpos y 6 pseudocolpos. Poro circular. Colpos largos y estrechos de 36,9 (28,9-44,8) μm de largo. Surco longitudinal menos largo que el colpo a cada lado del colporo.

Dimensiones: P= 55,9 (51,8-59,9) μm , E= 47,4 (36-51,5) μm , P/E= 1,1 (1-1,2) μm .

Material de referencia: CENTRAL: Monumento Natural Cerro Koi [25°19'23''S; 57°23'54'' W] 18/VII/2018. Marchi, P.205. (FCQ-UNA).

Lámina palinológica: PAL-FACEN-UNA 012.

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

Las observaciones realizadas en este trabajo permitieron caracterizar al microscopio óptico la morfología de los granos de polen de las cuatro especies de la familia Acanthaceae colectadas en el Cerro koi.

Las características en común encontradas en las cuatro especies son la polari-

Marchi, P; Delmás, G. Morfología de los granos de polen de especies de Acanthaceae del Cerro koi, Areguá, Paraguay

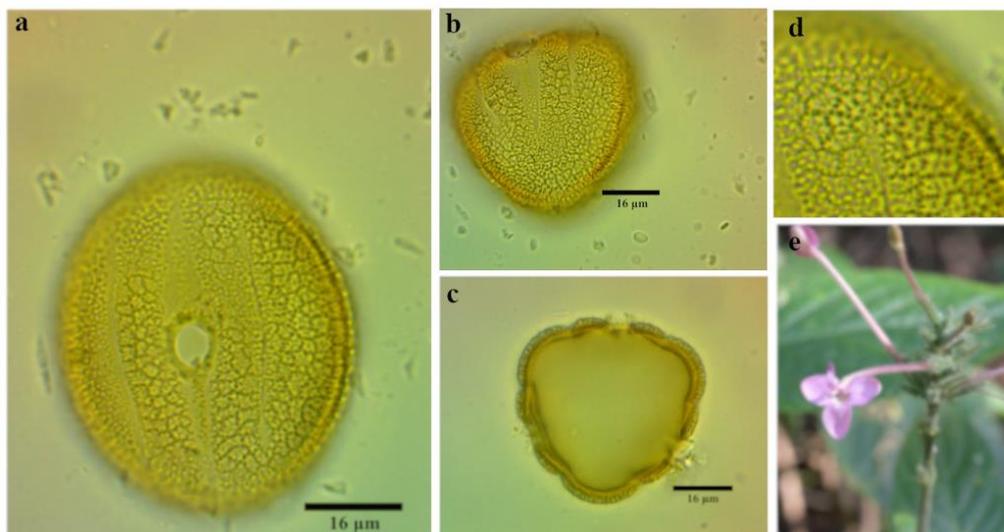


Figura 4: *S. dubiosus*. a) Grano de polen, vista ecuatorial en foco superior (1000x), b) Grano de polen, vista polar en foco superior (1000x), c) Grano de polen, vista polar en corte óptico (1000x), d) Detalle del retículo de la exina, e) Flor (c. 3.1 cm de largo)

dad isopolar y el tamaño grande de los granos de polen. En cuanto a la exina, *J. ramulosa* (Morong) C. Ezcurra presenta el mayor espesor y *J. rusbyi* (Lindau) V.A.W. Graham el menor espesor. En todas las especies a excepción de *J. rusbyi* (Lindau) V.A.W. Graham, fueron distinguibles las capas de sexina y nexina siendo esta última de espesor ligeramente menor. Sin embargo, para una mejor descripción de la exina es necesario realizar observaciones al microscopio electrónico de barrido.

Los granos de polen de las especies del género *Justicia* L. presentan en común la simetría bilateral, la forma que tiende al prolato, y la presencia de islas de exina que según la especie varían en número y disposición. La apertura es colporoidada en *J. rusbyi* (Lindau) V.A.W. Graham y colporada en las demás especies estudiadas en este género.

En *S. dubiosus* (Lindau) V.M.Baum, los granos de polen presentan simetría radial y forma de prolato esferoidal a subprolato. La apertura es heterocolpada, con tres colpos y seis pseudocolpos.

Para *J. brasiliana* Roth y *S. dubiosus* (Lindau) V.M.Baum los datos reportados en este trabajo se encuentran en concordancia con las descripciones aportadas por Pire et al. (2006) e Ybert et al. (2016), para las mismas especies con distribución en Argentina y Brasil, difiriendo muy poco en lo que en medidas se refiere.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales y a los laboratorios de Micología, Microbiología y Química, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción, por permitirnos utilizar sus instalaciones y equipos.

Al herbario de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Asunción por la predisposición de siempre.

A los guardaparques del Monumento Natural Cerro Koi por el apoyo brindado durante los muestreos.

A María Vera, Valeria Malatini, Nathalia Brusquetti, Olga Aquino, Ever López Grau, Diego Britez, Edher Herrera, José Pedersen por el apoyo en las colectas y procesamiento. A Sigrid Drechsel, por las fotografías tomadas en el campo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Erdtman, G. (1960). The acetolysis method: a revised description. *Sv Bot Tidskr Lund* 54(4): 561-564.
- Erdtman, G., (1966). *Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms*. New York, Estados Unidos: Hafner Publ. Co.
- Ezcurra, C. (1999). *Acanthaceae* Juss. Aportes Botánicos de Salta-Ser. *Flora, Vol 6(4)*, 1-58.
- Instituto de Botánica Darwinion. 10 Dic 2018. <http://www.darwin.edu.ar/>
- Ley 179. Declara Monumentos Naturales al Cerro Koi y al Cerro Chorori. Biblioteca y Archivo Nacional del Congreso de la Nación (BACCN). Paraguay, 23 de junio de 1993. Disponible en: <http://bacn.gov.py/archivos/971/20141014142057.pdf>
- Molina, E. (2004). *Micropalantología*. Zaragoza, España: Prensas universitarias de Zaragoza.
- Pire, S. M., Anzotegui L. M., Cuadrado, G. A. (Ed.). (1998). *Flora Polínica del Nordeste Argentino*. Corrientes, Argentina: Editorial EUDENE.
- Pire, S. M., Anzotegui, L. M., y Garalla, S.S. (2006). Acanthaceae. En: S. M. Pire, L. M. Anzotegui, y G. A. Cuadrado (Ed.). *Flora polínica del Nordeste Argentino* (pp 15-38). Corrientes, Argentina: Editorial EUDENE
- Punt, W., Hoen, P.P., Blackmore, S., Nilsson, S., & Le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. Review of Palaeobotany and Palynology. *Elsevier*. 143: 1-81
- Roche, P. (Ed.). (2014). *Plan de manejo de los Monumentos Naturales Cerro Koi y Chorori. Periodo 2014-2019. Municipalidad de Areguá, Secretaría del Ambiente, Secretaría Nacional de Turismo*. Areguá, Paraguay.
- Soria, N., Basualdo, I. (2004). La vegetación de los Cerros Koi y Chorori. *Revista Rojasiana* 6(1), 71-80.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 02 Dic 2018 <http://www.tropicos.org>
- Ybert, J. P., De Araujo Carvalho, M., Scheel-Ybert, T. (2016). *Grãos de pólen de plantas vasculares do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Vol 1*. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Museu Nacional.
- Zomlefer, W. (1994). *Guía de las familias de plantas con flor*. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A.

Actividades genotóxica y antioxidante del extracto etanólico de flores de *Mangifera indica* L. evaluadas mediante el método de captura del radical DPPH• y detección de alteraciones nucleolares en células meristemáticas de *Allium cepa* L.

Gómez Casco, L^{1*}; Dávalos, L¹; Leiva, C¹; Rotela, Y¹; Ucedo, A¹; Valdovinos, M¹; Vera, G¹; Ocampos, R¹, De Oliveira, R²; Ferreira, F³; Martínez, M⁴; Gayozo, E¹; Torres, E¹.

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, San Lorenzo, Paraguay.

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Odontología, Carrera de Odontología, Asunción, Paraguay.

³Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química, Laboratorio de Instrumental, San Lorenzo, Paraguay.

⁴Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales-Área de Química Orgánica de los Productos Naturales, San Lorenzo, Paraguay.

*E-mail del autor: marialeticiagomezcasco@gmail.com

Actividades genotóxica y antioxidante del extracto etanólico de *Mangifera indica* L. evaluadas mediante el método de captura del radical DPPH• y detección de alteraciones nucleolares en células meristemáticas de *Allium cepa* L. *Mangifera indica* es una planta muy utilizada con fines medicinales, pero existe escasa información sobre la toxicología de sus flores, por ello se propuso como objetivo, evaluar las actividades antioxidante y genotóxica del extracto etanólico de sus flores, empleando el método de captura de radicales DPPH• y analizando alteraciones nucleolares en células meristemáticas de *Allium cepa*. El ensayo DPPH• se realizó exponiendo cantidades de 40, 80, 200, 400, 560 µg del extracto a 3,9 mg% del radical y se midió la absorbancia a $\lambda=570$ nm. Para el *Allium* test, las células meristemáticas fueron expuestas a 1, 20, 40, 60 y 80 mg.mL⁻¹ del extracto por 24, 48 y 72 horas, igual que los controles, se contabilizaron 1000 células y fueron analizados con el test T. La IC50 del extracto fue de 338,2±0,5 µg, 15 veces menor al ácido ascórbico. Mientras que en el ensayo de genotoxicidad se evidenció un aumento significativo en la frecuencia de células con 4, 5 y 7 nucléolos en la concentración de 20 mg.mL⁻¹ a las 24 horas de exposición y en células con 4 y 5 nucléolos en 80 mg.mL⁻¹ a 72 horas, además se encontraron partículas nucleolares en el citoplasma en 1 y 60 mg.mL⁻¹ a las 48 horas y a las 72 horas en 40 y 60 mg.mL⁻¹, y en el nucleoplasma en concentraciones 40 y 80 mg.mL⁻¹ a 24 horas y 72 horas en 20 mg.mL⁻¹. Sugiriendo que el extracto presenta actividad antioxidante in vitro, y efectos genotóxicos sobre los nucléolos.

Palabras claves: *Mangifera indica*; NOR, radical libre, 2,2-difenil-1-picrilhidracilo.

Genotoxic and antioxidant activities of the ethanolic extract of *Mangifera indica* L. evaluated using the DPPH• radical capture method and detection of nucleolar alterations in meristematic cells of *Allium cepa* L. *Mangifera indica* is widely used for medicinal purposes, but there is little information about the toxicology of this flowers, thus objective of this study was to evaluate the genotoxic and antioxidant activities of the ethanolic extract of *M. indica* flowers analyzing nucleolar alterations in meristematic cells of *Allium cepa* and the radical capture method DPPH• respectively. The DPPH• assay was performed by exposing amounts of 40, 80, 200, 400, 560 µg of extract to 3.9 mg% of the radical and the absorbance was measured at $\lambda=570$ nm. For the *Allium* test. meristematic cells were exposed to 1, 20, 40, 60 and 80 mg.mL⁻¹ of the extract for

Steviana, Vol. 11 (2), 2019 pp. 56 – 72

Original recibido el 30 de mayo de 2019

Aceptado el 04 de febrero de 2020

24, 48 and 72 hours, as were the controls, and 1000 cells were counted and analyzed with the T test. The IC₅₀ of the extract was $338.2 \pm 0.5 \mu\text{g}$, 15 times lower than ascorbic acid. While in the genotoxicity assay, a significant increase in the frequency of cells with 4, 5 and 7 nucleoli was found in the concentration of $20 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ at 24 hours of exposure and cells with 4 and 5 nucleoli at $80 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ with 72 hours, in addition nucleolar particles were found in the cytoplasm at 1 and $60 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ with 48 hours and with 72 hours at 40 and $60 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; in the nucleoplasm at 40 and $80 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ with 24 hours and with 72 hours at $20 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Suggesting that the extract has antioxidant activity in vitro, and genotoxic effects on the nucleoli of exposed cells.

Key words: *Mangifera indica*; NOR, free radical, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

INTRODUCCIÓN

La planta de *M. indica* es muy utilizada con fines medicinales, estudios fitoquímicos con extractos de hojas y frutos han revelado la presencia de alto contenido de compuestos bioactivos que previenen numerosas patologías como las cardiopatías, la arteriosclerosis y enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson (Palafox Carlos *et al.*, 2012; Padurariu *et al.*, 2013). También se le atribuyen actividades antiinflamatoria, antialérgica, antihelmíntica, antiamebica, antimicrobial y anticancerígena (García *et al.*, 2011; Garrido *et al.*, 2004; García *et al.*, 2001; Tona *et al.*, 1998; Abdullah *et al.*, 2015). Otros estudios, como el de Hanhineva *et al.* (2010) menciona que el extracto de semillas de *M. indica* provoca un aumento en la inhibición de enzimas como la α -amilasa y la α -glucosidasa, lo cual retarda la digestión de carbohidratos y la subsecuente absorción de glucosa, que conlleva a una disminución en los niveles de glucosa postprandial en sangre. Bazalar *et al.* (2018) refirió el papel protector de la pulpa del mango al evaluar su actividad antioxidante y antihepatotóxica. Ashok (2014) evaluó el efecto antibacterial de extractos de *M. indica* concluyendo que este puede ser utilizado como agente antibacteriano en nuevos fármacos, este efecto podría estar asociado a la presencia de altas concentraciones de com-

puestos como taninos que afectan la actividad de numerosas enzimas estructurales de bacterias y levaduras, y por consiguiente el desarrollo de dichos microorganismos.

El producto de la decocción de flores de mango, es utilizado para el tratamiento de úlceras agudas además de mostrar efectos gastroprotectores sin presentar aparentes signos de toxicidad o efectos secundarios, se tiene también en cuenta sus posibles efectos antioxidantes y antígenotóxicos por la presencia de ácido gálico y galato de etilo, entre otros compuestos fenólicos, que fueron determinados en una investigación donde se resalta la necesidad de encontrar nuevos métodos para purificación de compuestos presentes en las flores y los frutos. Se tienen datos de la presencia de ácidos fenólicos, ácido ascórbico, carotenoides, ácidos cinámicos, oligómeros (flavonoides, xantonas, benzofenona), estilbenos, lignanos, galotaninos, taninos condensados y polifenoles no taninos encontrados en la pulpa de la fruta, la corteza, las hojas y el tallo, estos compuestos fenólicos exhiben varias actividades farmacológicas, tales como antidiabéticos, anticarcinogénico, lipoperoxidación, antimicrobial, analgésico, antiinflamatorio, con efectos inmunomoduladores y capacidad de quimiopreención del cáncer (Shaheen *et al.*, 2017)

Si bien se conoce la composición química, lo relacionado a sus efectos antio-

xidantes, genotóxicos o antigenotóxicos es poco conocido. Entre algunos de los estudios realizados sobre el tema se encuentra el llevado a cabo por Morffi *et al.* (2013), quienes concluyeron mediante el ensayo cometa que el extracto de corteza de *M. indica* induce a daños primarios al ADN de linfocitos humanos no así en hepatocitos de rata bajo condiciones similares en los que no se observaron efectos genotóxicos. Se encuentra también el trabajo de Montoya *et al.* (2003), realizado con el método DPPH● para evaluar la actividad antioxidante de varios extractos vegetales sobre cultivo de linfocitos de sangre periférica humana, en el que se observó que el extracto de hojas de *M. indica* poseía una de las mayores actividades antioxidantes, pero a ciertas dosis se retrasa el ciclo celular, lo que se asocia con la reparación del ADN en fase G2.

Álvarez *et al.* (2019) evaluó la capacidad antioxidante del extracto liofilizado de hojas de *M. indica* mediante los métodos DPPH●, FRAP, TBARS y ABTS y su efecto sobre el íleon de *Rattus norvegicus* Holtzman. En estos ensayos se registró que el extracto posee capacidad antioxidante similar o mejor al del Trolox 0,5 mM cuando se utiliza en determinadas concentraciones, además reduce el estrés oxidativo inducido por H₂O₂ en íleon de *R. norvegicus* Holtzman, efecto que se atribuye posiblemente a su poder antioxidante.

En la investigación de Wang *et al.* (2010), realizada específicamente con flores de mango para comparar dos tipos de extracción de aceites esenciales, una vez obtenido el aceite esencial, se llevó a cabo un análisis de GC-MS al mismo, lo que indicó que el aceite esencial de las flores posee gran cantidad de hidrocarburos monoterpenos, seguido por otros compuestos

como el terpinoleno, δ -3-careno, limoneno, α terpineno y el p-cymen-8-ol, sabiendo que algunos de estos compuestos presentan actividad antioxidante, antiinflamatoria, antifúngica así como efectos sedantes.

En el presente estudio se espera poder demostrar que el extracto etanólico de flores de *M. indica* presenta algún potencial genotóxico o un potencial antioxidante mediante los ensayos llevados a cabo, y poder aportar de esta manera a los conocimientos científicos de las propiedades toxicológicas de la especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de material vegetal e identificación taxonómica

La colecta de las flores de *M. indica* se realizó dentro del campus de la Universidad Nacional de Asunción en la ciudad de San Lorenzo-Paraguay, ubicada en las coordenadas -25.3352166,-57.5255309,-17.

Los criterios de inclusión para la colecta fueron que las flores se encontraban en estado de crecimiento, amarillas y en buen estado ubicadas en los extremos de las ramas. La identificación de los árboles se llevó a cabo tomando en cuenta el trabajo de Pérez, (2016). Para la recolección de las flores de los diferentes árboles en la zona de muestreo se observaron características como el tamaño del árbol y que presente hojas simples, alternas y estrechamente elípticas; las flores colectadas se identificaron de acuerdo a la Farmacopea herbolaria del Paraguay (Basualdo & Soria, 1996) en cuanto al color eran blancas y amarillas, con racimos terminales.

Elaboración del extracto etanólico de flores de *M. indica*

El extracto etanólico de flores de *M. indica* se elaboró a partir de 1970g de flores, que fueron sumergidas completamente en etanol a 96° y luego de su agitación se dejó en reposo durante 15 días, pasado ese tiempo se evaporó el etanol en un rotavapor a 80 °C obteniendo así el extracto crudo. Luego se pesó 0,1g del extracto crudo utilizando como solvente 2mL DMSO al 2%, una vez disuelto el extracto, se enrasó con PBS a pH: 7,4 hasta un volumen de 1000 mL, obteniendo así la solución madre que se utilizó para realizar las concentraciones de 1, 20, 40, 60 y 80 mg.mL⁻¹.

Ensayo de toxicidad nucleolar en células meristemáticas de *A. cepa*

El crecimiento del tejido meristemático radicular de *A. cepa* se realizó en una germinadora a 20° ± 2° C en agua de red declorada, burbujeada por 48 horas con un caudal de 8 L.min⁻¹. Una vez crecidas las raíces se cortaron al alcanzar una longitud de 2 cm., luego fueron tratadas en tubos de ensayos con 8 mL del extracto etanólico de *M. indica* (1, 20, 40, 60 y 80 mg.mL⁻¹) por 24, 48 y 72 horas, como control negativo se empleó agua destilada y como control positivo, 8-hidroxiquinoleína 0,73 mg.mL⁻¹ en iguales tiempos de exposición.

Una vez concluidos los tratamientos, las raíces de *A. cepa* fueron fijadas en una solución de 1:1 de formol 10%:hidroquinona 1%, durante 1 hora a temperatura ambiente (25° ± 2° C); posteriormente se lavaron tres veces las raíces con agua destilada durante 10 minutos. A continuación se introdujeron las raíces en una solución de 2% de nitrato de plata a una temperatura de 70° C durante 15 horas en total oscuridad,

transcurrido el tiempo se lavaron las raíces con agua destilada y se volvieron a fijar en una nueva mezcla de formol:hidroquinona 1:1 durante 1 hora, finalmente se realizó el squash las raíces con gotas de ácido acético 50% sobre una lámina (Hizume y Tanaka, 1980). Posteriormente se llevaron los preparados de acuerdo a su respectiva concentración y tiempo de exposición a un microscopio óptico (Boeco Germany) contabilizando 1000 células por tratamiento.

Método de captura del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH●)

En 100 mL de Etanol seco 100° se disolvió 1 gramo del extracto crudo de flores de *M. indica* obteniendo una solución stock de 10000 µg.mL⁻¹, a partir de la cual se obtuvieron cantidades de 40, 80, 200, 400, 560 µg, a 2mL de cada uno, separados en tubos de ensayo se les añadió 5 mL de solución del radical libre DPPH● 3,9 mg% en cada tubo. A continuación, se llevaron a vórtex durante 1 minuto, se dejó en reposo y en ausencia de luz a temperatura ambiente de 25°±2° C durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se realizó la lectura de absorbancia a 517 nm de longitud de onda en espectrofotómetro QUIMIS®. Teniendo en cuenta que la disminución de la absorbancia a esta longitud de onda es proporcional a la capacidad antioxidante (Kuskoski *et al.*, 2005).

Se utilizó como compuesto de referencia el ácido ascórbico, por su capacidad antioxidante conocida. Cada ensayo se realizó por triplicado y se llevó a cabo la curva de calibración representada por los valores medios obtenidos.

Análisis estadístico de datos

Para determinar diferencias entre los tratamientos, los datos obtenidos mediante

el *Allium* test fueron analizados con ayuda del paquete estadístico Past versión 3.0, empleando la Prueba T o test T, con un 95% de confianza habiéndose comprobado previamente los supuestos (Hammer *et al.*, 2001). Los gráficos estadísticos se realizaron empleando el programa GraphPad Prism 6.00, La Jolla California USA.

Mediante los datos obtenidos con el método del radical libre, se pudo calcular el porcentaje de inhibición (I%) utilizando la siguiente fórmula:

$$I\% = \frac{(AC - AM - AB)}{AC} \times 100$$

Donde:

- AM es la absorbancia de la muestra + DPPH●
- AB es la absorbancia del blanco (muestra + Etanol)
- AC es la absorbancia del blanco del reactivo (DPPH● + Etanol)

Mientras que la concentración inhibitoria 50 (IC50) se calculó mediante la función de la recta de la regresión lineal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de las alteraciones nucleolares en células meristemáticas tratadas.

Las observaciones evidenciaron que en el tratamiento llevado a cabo por 24 horas, la frecuencia de células con 1 a 3 nucléolos fueron de 91,47% en el tratamiento de las células con la concentración de 1 mg.mL⁻¹, 92,85% en el tratamiento con la concentración de 20 mg.mL⁻¹, 90,98% en el tratamiento con la concentración de 40 mg.mL⁻¹, 92,48% en el tratamiento con la concentración de 60 mg.mL⁻¹ y 94,48% en el tratamiento realizado con la concentra-

ción de 80mg.mL⁻¹, evidenciando un incremento significativo (P<0,05) sólo aquellas muestras expuestas a las concentraciones de 60 y 80mg.mL⁻¹ al ser comparadas con el control negativo el cual presentó una frecuencia de 98,91%, y el control positivo que registró una frecuencia de 72,61% (Tabla 1, Figura 1, Figura 2).

Mientras que en la cuantificación de células con 4 nucléolos, éstas sufrieron un aumento significativo (P<0,05) en los tratamientos con las concentraciones de 1, 20, 40 y 80 mg.mL⁻¹ con resultados de 5,43%, 5,62%, 8,61% y 4,81% respectivamente, en comparación con el control negativo en un 0,81% y el control positivo 19,20%. En cuanto al resultado correspondientes a células con 5 nucléolos evidenció un ligero aumento significativo (P<0,05) en el tratamiento realizado con la concentración de 20 mg.mL⁻¹ con un porcentaje de 0,38% en comparación con el control negativo que no evidenció células con dicha cantidad de nucléolos, y en el control positivo se observó una frecuencia de 0,40%. Así también en el caso de células con 7 nucléolos se registró un ligero aumento significativo (P<0,05) en la exposición con la concentración de 20 mg.mL⁻¹ con una frecuencia de 0,38%, el control negativo no registró frecuencia alguna y el control positivo una frecuencia de células de 0,06%. En la cuantificación de células con la presencia de partículas nucleolares en el nucléoplasma, resultaron con un ligero incremento significativo (P<0,05) los tratamientos con las concentraciones de 1, 40 y 80 mg.mL⁻¹ los cuales presentaron frecuencias de 2,71%, 0,40% y 0,54% (Tabla 1, Figura 1, Figura 2).

Por otro lado, en los tratamientos con una exposición de 48 horas, se obtuvo una frecuencia de 88,75% de células con 1 a 3

nucléolos en el tratamiento llevado a cabo con la concentración de 1 mg.mL⁻¹, 85,54% en el tratamiento con la concentración de 20 mg.mL⁻¹, 88,52% en el tratamiento con la concentración de 40 mg.mL⁻¹, 91,19% en el tratamiento con la concentración de 60 mg.mL⁻¹ y 78,94% en el tratamiento con la concentración de 80mg.mL⁻¹, todas estas fueron significativamente diferentes (P<0,05) en relación a los controles, hallándose en el control negativo una frecuencia de 96,95%, y en el control positivo se registró una frecuencia de 90,62% (Tabla 1, Figura 1, Figura 2).

En cuanto a células con 4 nucléolos, en el tratamiento con las concentraciones de 1, 20, 40, 60 y 80 mg.mL⁻¹ se obtuvieron frecuencias de 6,00%, 7,52%, 10,67%, 6,04% y 19,05% respectivamente, todas estas fueron significativamente mayores (P<0,05) en comparación a la encontrada en el control negativo. En los porcentajes de células con partículas nucleolares en el citoplasma, se obtuvieron resultados significativos (P<0,05) en el tratamiento con las concentraciones de 1 y 60 mg.mL⁻¹ con frecuencias de 5,06% y 1,51%, mientras que en los porcentajes de células con partículas nucleolares, se encontró un aumento significativo (P<0,05) a la concentración de 20 mg.mL⁻¹ con una frecuencia de 6,12% (Tabla 1, Figura 1, Figura 2).

En cuanto a los resultados luego de 72 horas de exposición, se obtuvieron frecuencias significativas (P<0,05) de células con 4 nucléolos en los tratamientos con las concentraciones de 1, 40 y 80 mg.mL⁻¹, con frecuencias de 8,02%, 14,41% y 8,92% respectivamente, también se encontraron frecuencias significativas de células con 5 nucléolos (P<0,05) en los tratamientos con concentraciones de 20 y 80 mg.mL⁻¹ los cuales presentaron frecuencias de 0,90% y

0,54%. Por último, se obtuvieron frecuencias significativas (P<0,05) de células con partículas nucleolares en el citoplasma en los tratamientos con concentraciones de 40 y 60 mg.mL⁻¹ con frecuencias de 1,61% y 0,63% (Tabla 1, Figura 1, Figura 2).

Según los resultados podríamos decir que el motivo por el cual el número de nucléolos en las células meristemáticas varía es la exposición al extracto, ya que éste produce la activación por estrés del metabolismo celular, el cual se relaciona directamente con la transcripción del ADN ribosómico y la síntesis total de ARN en células de rápido crecimiento y metabolismo activo, esto implica que los nucléolos son fundamentales en la regulación del crecimiento celular (Lempiäinen & Shore, 2009). Las cifras significativas obtenidas son relevantes siendo que esto indicaría una influencia del extracto sobre la estructura de las Regiones de Organización Nucleolar (NOR) ya que en condiciones normales las células meristemáticas de *A. cepa* presentan 1 a 3 nucléolos. (Mazzeo & Marin-Morales, 2015).

La tinción argéntica demostró la presencia de regiones nucleolares que variaron en cuanto a tamaño y número, algunos nucléolos se presentaron pequeños y numerosos, siendo variables en número y forma dependiendo de la concentración a la que fueron expuestos -Figura 2. Teniendo en cuenta estos resultados se hace énfasis en que una característica de las células normales es tener pocos nucléolos, de tamaño reducido y a veces casi imperceptibles, siendo indicativos de cambio anómalo como el aumento del número de nucléolos, como también el tamaño y las irregularidades en su forma (Rodríguez, 1997). Ciertas características como el tamaño, la forma y el número de nucléolos

se utilizan como marcadores de estrés celular, siendo uno de los factores que puede afectar el funcionamiento de la mitosis y la transformación de células, ya que se evidenció en investigaciones anteriores, donde el número de nucléolos dependería de la euploidia (Latorre *et al.*, 2017).

Todas las unidades estructurales-funcionales del nucléolo se encuentran en las Regiones de Organizadores Nucleolares Argirófilas (AgNORs), siendo estas necesarias para la síntesis de ARN ribosomal, dentro de la cual son sumamente importantes dos proteínas argófilas que son, la nucleolina y la nucleofosmina que están asociadas con AgNORs de interfase, dichas proteínas se tiñen en presencia de plata haciéndolas visibles al microscopio, estos orgánulos tienen implicancia en varias actividades celulares, además de la producción de unidades ribosómicas, convirtiéndose así en un dominio nuclear multifuncional. Durante la división celular, los nucléolos se fragmentan, para posteriormente reconstruirse en base a las porciones NOR, las cuales, durante la interfase estaban transcripcionalmente activas mientras que durante la mitosis se mantienen en cierto grado descondensadas para formar las constricciones secundarias de los cromosomas en metafase (Stępiński, 2014).

La demanda celular de síntesis de proteínas tiene que ver con la biosíntesis de ribosomas, lo que está relacionado con el estadio celular, siendo mayor la producción de ribosomas en células en crecimiento y proliferación, lo que podría correlacionarse con la proliferación acelerada de células atípicas en ciertos tejidos (Stępiński, 2014)

Teniendo en cuenta los valores obtenidos en este estudio, el aumento signifi-

cativo de nucléolos podría estar vinculado a una aceleración del metabolismo celular luego de la exposición al extracto, considerando que según Lacadena (1996), en células vegetales el patrón de NORs activos por célula en todo el individuo se mantiene constante, a diferencia de las células animales; además en el trabajo de Lacadena se resalta que la técnica sólo tiñe aquellos NORs que estaban en un estado activo durante la interfase.

La actividad transcripcional del ARNr está estrechamente relacionada con el número de NORs de interfase, siendo esta a su vez un indicador de células neoplásicas malignas por la continuidad y rapidez con la que proliferan (Rodríguez *et al.*, 2010).

Aunque la función exacta de las proteínas NORs es incierta, se ha demostrado su relación con la proliferación celular y se ha sugerido que, en un núcleo en interfase, el número de AgNORs puede reflejar el estadio de activación y el grado de transformación maligna de ciertos tejidos; además, los AgNORs reflejan el grado de proliferación y diferenciación celular. Se ha considerado que el conteo de AgNORs puede contribuir al diagnóstico histológico, estableciendo el grado de transformación maligna de una lesión, por lo que este método puede ser un auxiliar como marcador cuantitativo en alteraciones celulares incipientes antes de que los cambios puedan ser detectados histológicamente (Leyva Huerta *et al.*, 2004).

Ensayo de captura de radicales DPPH●

El análisis de actividad antioxidante por el método de captura del radical libre DPPH● mediante la ecuación de regresión

lineal (ERL) calculada para la curva patrón de ácido ascórbico (AA) fue $I\% = 2,66[AA] - 8,83$ con un valor de coeficiente de correlación lineal (r) igual a 0,999. El valor de la IC_{50} calculada para el ácido ascórbico utilizado como patrón fue de $22,1 \pm 0,03 \mu\text{g}$ y la IC_{50} calculada para el extracto crudo de *M. indica* en estudio generó un valor de $338,2 \pm 0,5 \mu\text{g}$ -Figura 3.

Para la curva del extracto crudo de *M. indica* se calculó la ecuación de regresión lineal $I\% = 0,1369 [EC] + 3,6936\mu\text{g}$ con un valor de $r = 0,999$ -Figura 3.

Los valores de IC_{50} obtenidos indican que el extracto crudo de las flores de *M. indica* presenta una actividad antioxidante 15 veces menor en relación al ácido ascórbico (AA) utilizado como patrón en este experimento, lo que sugiere que este extracto podría llegar a utilizarse para la extracción y purificación de sustancias antioxidantes, teniendo en cuenta que este es el resultado de la acción de varios compuestos ya que hablamos de un extracto crudo (Cardeño *et al.*, 2007).

No se encontraron trabajos realizados con flores de mango para saber su potencial antioxidante, pero en la investigación llevada a cabo por Gomes *et al.* (2014), se evidenció el efecto antioxidante de jugos de pulpa de mango, el cual aumentaba al adicionar la cáscara, además de poseer efectos antiinflamatorios probablemente por sus grandes cantidades de fenoles totales.

Según el trabajo de Toledo *et al.* (2015), el extracto de hojas de *M. indica* posee efectos antioxidantes, antiinflamatorias e inmunomoduladoras entre otras propiedades que son atribuidas especialmente a su principal compuesto bioactivo, el xantonoide denominado mangiferina, el cual

podría ser uno de los responsables de la actividad antioxidante de las flores demostrado en los resultados de este ensayo.

En una investigación realizada por Bazalar *et al.* (2018), se determinó la capacidad antioxidante de la pulpa de mango mediante el método de DPPH●, este método se basa en la utilización del DPPH● que es un compuesto de color púrpura que posee un electrón desapareado. Al estar en presencia de un anti-oxidante el radical libre se estabiliza y se produce la decoloración hasta alcanzar un tono amarillento pálido. Mediante este fundamento, se concluyó que el extracto etanólico de las flores de *M. indica* podrían poseer efectos antioxidantes debido a que en la pulpa se encontraban sustancias como el ácido ascórbico, terpenoides, carotenoides y compuestos fenólicos como la leucocianidina, catequina, epicatequina, ácido clorogénico, quercitrina y quercetina que pueden actuar como antioxidantes naturales. Posiblemente varios de estos compuestos se encuentren también en las flores provocando efectos antioxidantes.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En cuanto a los resultados obtenidos en el *Allium* test, se encontró un aumento significativo en el número de células meristemáticas con más de 3 nucléolos luego de la exposición al extracto en los tiempos y concentraciones evaluados, además se observó la presencia de partículas nucleolares en nucleoplasma y en el citoplasma, por lo cual dichos eventos manifiestan que el extracto etanólico de las flores de *M. indica* posee efectos genotóxicos capaces de provocar una alteración en el metabolismo celular, debido al estrés generado

Gómez Casco, L et al. Actividades genotóxica y antioxidante del extracto etanólico de flores de *Mangifera indica* L.

por la exposición al extracto crudo. En cuanto al análisis de la actividad antioxidante, se concluye que el extracto de las flores de *M. indica* posee una actividad antioxidante 15 veces menor a la del ácido ascórbico (antioxidante de referencia), siendo este un resultado importante ya que el extracto de las flores de *M. indica* puede ser un candidato para la extracción de antioxidantes naturales.

Como recomendaciones para trabajar con la especie *Mangifera indica* podemos sugerir la aplicación de ensayos utilizando otros organismos modelo, como *Danio rerio* o *Drosophila melanogaster*, para tener mayor información acerca de la acción del extracto, sería importante también analizar el DL50 del mismo. Además, recomendamos confirmar la especie con un herbario o un especialista botánico para tener una mayor exactitud en cuanto a la taxonomía utilizada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah, A. S. H., Mohammed, A. S., Abdullah, R., & Mirghani, M. E. S. (2015). Identification and quantification of phenolic compounds in *Mangifera indica* waterlily kernel and their free radical scavenging activity. *Journal of Advanced Agricultural Technologies* Vol, 2(1). Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de https://www.researchgate.net/publication/281022170_Identification_and_Quantification_of_Phenolic_Compounds_in_Mangifera_Indica_Waterlily_Kernel_and_Their_Free_Radical_Scavenging_Activity
- Alvarez, H. D. (2019). Capacidad antioxidante de *Mangifera indica* L. cv. Kent y su efecto sobre íleon de *Rattus norvegicus* Holtzman. Tesis II, 1-25. Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/15333>
- Ashok, V. G., Priya, S. B., & Pranita, A. G. (2014). Evaluation of Antibacterial and Phytochemical Analysis of *Mangifera indica* Bark Extracts. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 3(5), 567-580. Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de <https://www.ijcmas.com/vol-3-5/V.Gomashe%20Ashok,%20et%20al.pdf>
- Basualdo, I., & Soria, N. (1996). Farmacopea herbolaria paraguaya: especies de la medicina folklórica utilizadas para combatir enfermedades del aparato respiratorio (Parte i). *Rojasiana*, 3(2), 197-238. Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de <https://qui.una.py/volumen-32-1996/>
- Bazalar Palacios, J. D. R. (2018). Capacidad antioxidante de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.). Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de https://www.researchgate.net/publication/329121106_Capacidad_antioxidante_de_la_pulpa_de_mango_Mangifera_indica_L
- Bazalar Palacios, J. D. R. (2018). Evaluación de la actividad antioxidante y antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono. 1-55. (82 páginas). Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/8466>
- Cardenio, Á. (2007). Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia aratensis*, *Salvia Sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*. *Scientia et Technica*, 1(33). Recuperado en fecha

- 24 de Junio de 2020 de <https://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/6109>
- García, J. L., & Montilla, R. (2001). *Coptera haywardi* Loíacono (Hymenoptera: Diapriidae) parasitoide de pupas de *Anastrepha spp.* (Diptera: Tephritidae) en Venezuela. Vol. 16(3): 191-195. Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de <http://www.bioline.org.br/abstract?id=em01029&lang=es>
- García-Rivera, D., Delgado, R., Bougarne, N., Haegeman, G., & Berghe, W. V. (2011). Gallic acid indanone and mangiferin xanthone are strong determinants of immunosuppressive anti-tumour effects of *Mangifera indica* L. bark in MDA-MB231 breast cancer cells. *Cancer letters*, 305(1), 21-31. Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21420233/>
- Garrido, G.; Gonzalez, D.; Lemus, Y.; Garcia, D.; Lodeiro, L.; Quintero, G.; Delporte, C.; Nunez Selles, A.J.; Delgado, R. 2004. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Pharmacol Res*; 50: 143-149. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15177302/>
- Hammer, R.; Harper, D.A.T. y Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontología Electrónica*. 4(1): 1-9. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf
- Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de *International journal of molecular sciences*, 11(4), 1365-1402. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20480025/>
- Hizume, M.; Sato, S. y Tanaka, A. 1980 A highly reproducible method of nucleolus organizing regions staining in plants. *Stain Technol.* 55:87-90. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de https://www.researchgate.net/publication/17029550_A_highly_reproducible_method_of_nucleolus_organizing_regions_staining_in_plants
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology* 25(4): 726-732. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000400016&lang=pt
- Lacadena, J.R. (1996). Citogenética. Editorial Complutense S.A., Madrid, 931 pp. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://www.ucm.es/data/cont/docs/159-2013-10-15-1996.pdf>
- Latorre, C. M. (2017). El nucléolo como sensor de estrés oxidativo. Implicaciones en patologías progeroides. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/86295/PICHER%20-%20El%20nucl%20c%20a%20lo%20como%20sensor%20de%20estr%20c%20a%20oxidativo.%20Implicaciones%20en%20patolog%20c%20adas%20progeroides..pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Gómez Casco, L et al. Actividades genotóxica y antioxidante del extracto etanólico de flores de *Mangifera indica* L.

- Lempiäinen, H., & Shore, D. (2009). Growth control and ribosome biogenesis. *Current opinion in cell biology*, 21(6), 855-863. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19796927/>
- Leyva Huerta, E., Vega, E., Ramírez, M., & Zárate, A. (2004). Marcador de regiones de organizadores nucleolares en lesiones epiteliales de cavidad bucal. *Rev Esp Patol*, 37, 287-293. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <http://www.patologia.es/volumen37/vol37-num3/pdf%20patologia%2037-3/37-03-07.pdf>
- Mazzeo, D.E.C. y Marin-Morales, M.A. 2015. Genotoxicity evaluation of environmental pollutants using analysis of nucleolar alterations. *Environmental Science and Pollution Research*. 22(13): 9796-9806. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25639248/>
- Montoya, B. H., Lemeshko, V., López, J. B., Pareja, A., Urrego, R., & Torres, R. (2003). Actividad antioxidativa de algunos extractos vegetales. *Vitae*, 10(2), 72-79. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169817981008.pdf>
- Morffi, J., Gonzalez, J. E., Garrido, G., Delgado, R., Gomez-Lechon, M. J., & Rodeiro, I. (2013). DNA damage induced by an extract of *Mangifera indica* stem bark using in vitro Comet assay. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12(3), 283-293. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de https://www.researchgate.net/publication/236627360_DNA_damage_induced_by_a_n_extract_of_Mangifera_indica_stem_bark_using_in_vitro_Comet_assay
- Padurariu, M., et al. (2013). "The oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease." *Psychiatria Danubina* 25.4: 0-409. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de http://www.psychiatria-danubina.com/UserDocsImages/pdf/dnb_vol25_no4/dnb_vol25_no4_401.pdf
- Palafox-Carlos, H., et al. (2012). "Effect of ripeness stage of mango fruit (*Mangifera indica* L., cv. Ataulfo) on physiological parameters and antioxidant activity." *Scientia Horticulturae* 135: 7-13. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de https://www.researchgate.net/publication/270219455_Effect_of_ripeness_stage_of_mango_fruit_Mangifera_indica_L_cv_Ataulfo_on_physiological_parameters_and_antioxidant_activity
- Pérez, L. (2016). Manual de Familias y Géneros de árboles del Paraguay. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado en fecha 09 de Julio de 2020 de http://www.infona.gov.py/application/files/7615/2345/3547/Manual_de_familias_y_generos_de_arboles_del_Paraguay.pdf
- Rodríguez, I., Perales, C., Chavera, C., & Díaz, C. (2010). Caracterización de las regiones organizadoras nucleolares en las células del tumor venéreo transmisible en caninos: Estudio histoquímico. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 21(1), 48-53. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172010000100007
- Rodríguez, J. 1997. Punción aspiración con aguja fina de órganos superficiales

- y profundos. Ediciones Díaz de Santos. 560 páginas. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://www.editdiazdesantos.com/libros/rodriguez-costa-julio-puncion-aspiracion-con-aguja-fina-de-organos-superficiales-y-profundos-L03002890102.html?articulo=03002890102>
- Shaheen, N., Lu, Y., Geng, P., Shao, Q., & Wei, Y. (2017). Isolation of four phenolic compounds from *Mangifera indica* L. flowers by using normal phase combined with elution extrusion two-step high speed countercurrent chromatography. *Journal of Chromatography B*, 1046, 211-217. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28199916/>
- Stępiński, D. (2014). Functional ultrastructure of the plant nucleolus. *Protoplasma*, 251(6), 1285-1306. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://link.springer.com/article/10.1007/s00709-014-0648-6>
- Toledo, R., 2020. Ação Da Mangiferina E Do Extrato Das Folhas De Manga Ubá (*Mangifera indica* L) No Estresse Oxidativo E Na Inflamação Em Animais Alimentados Com Dieta De Cafeteria. 1-35. [online] Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de: <<https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/6477>>
- Tona, L., Kambu, K., Ngimbi, N., Cimaniga, K., & Vlietinck, A. J. (1998). Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 61(1), 57-65. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9687082/>
- Gomes Natal, D. (2014). Efeito do néctar de manga Ubá na modulação do estresse oxidativo e da inflamação em ratos obesos. 62 págs. Recuperado en fecha 24 de Junio de 2020 de <https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/9197/texto%20completo.pdf?sequence=1>
- Wang, H. W., Liu, Y. Q., Wei, S. L., Yan, Z. J., & Lu, K. (2010). Comparison of microwave-assisted and conventional hydrodistillation in the extraction of essential oils from mango (*Mangifera indica* L.) flowers. *Molecules*, 15(11), 7715-7723. Recuperado en fecha 22 de Septiembre de 2020 de <https://europepmc.org/article/med/21042260>

Gómez Casco, L et al. Actividades genotóxica y antioxidante del extracto etanólico de flores de Mangifera indica L.

RESULTADOS

Tabla 1. Índice de variación nucleolar encontradas en células meristemáticas de *A. cepa* tratadas con diferentes concentraciones del extracto etanólico de flores de *M. indica*. N: nucléolos; PNC: partículas nucleolares en el citoplasma; PNN: partículas nucleolares en nucleoplasma. *: P <0,05 (significación estadística); NS: significación no estadística

Tratamiento	1-3 N	4 N	5 N	6 N	7 N	8 N	PNC	PNN
24 horas								
Control Negativo	98,91	0,81	0	0	0	0	0,09	0,18
0,73 mg.mL⁻¹ 8-Hidroxiquinoleína	72,61 ^{NS}	19,20*	0,40*	0,06 ^{NS}	0,06 ^{NS}	0	7,16*	0,47 ^{NS}
1 mg.mL⁻¹	91,47 ^{NS}	5,43*	0,27 ^{NS}	0	0	0	0,09 ^{NS}	2,71*
20 mg.mL⁻¹	92,85 ^{NS}	5,62*	0,38*	0,28 ^{NS}	0,38*	0,38 ^{NS}	0,09 ^{NS}	0
40 mg.mL⁻¹	90,98 ^{NS}	8,61*	0	0	0	0	0	0,40*
60 mg.mL⁻¹	92,48*	7,01 ^{NS}	0,16 ^{NS}	0,16 ^{NS}	0,16 ^{NS}	0	0	0
80 mg.mL⁻¹	94,48*	4,81*	0,15 ^{NS}	0	0	0	0	0,54*
48 horas								
Control Negativo	96,95	2,86	0,08	0,08	0	0	0	0
0,73 mg.mL⁻¹								
8-Hidroxiquinoleína	90,62*	9,28*	0,08 ^{NS}	0	0	0	0	0
1 mg.mL⁻¹	88,75*	6,00*	0,17 ^{NS}	0	0	0	5,06*	0

20 mg.mL⁻¹	85,54*	7,52*	0,39 ^{NS}	0,13 ^{NS}	0	0	0,26 ^{NS}	6,12*
40 mg.mL⁻¹	88,52*	10,67*	0,79 ^{NS}	0	0	0	0	0
60 mg.mL⁻¹	92,19 ^{NS}	6,04*	0,25 ^{NS}	0	0	0	1,51*	0
80 mg.mL⁻¹	78,94*	19,05*	1,08 ^{NS}	0,27 ^{NS}	0	0	0,63 ^{NS}	0
72 horas								
Control Negativo	97,81	2,18	0	0	0	0	0	0
0,73 mg.mL⁻¹ 8-Hidroxiquinoleina	86,13 ^{NS}	13,09*	0,28 ^{NS}	0	0	0	0,47 ^{NS}	0
1 mg.mL⁻¹	91,17 ^{NS}	8,02*	0,19 ^{NS}	0,19 ^{NS}	0	0	0,39 ^{NS}	0
20 mg.mL⁻¹	93,24 ^{NS}	5,85 ^{NS}	0,90*	0	0	0	0	0
40 mg.mL⁻¹	86,65 ^{NS}	14,41*	0,32 ^{NS}	0	0	0	1,61*	0
60 mg.mL⁻¹	93,63 ^{NS}	5,63 ^{NS}	0	0	0	0	0,73*	0
80 mg.mL⁻¹	89,33 ^{NS}	8,92*	0,54*	0,76 ^{NS}	0,10 ^{NS}	0,32 ^{NS}	0	0

Gómez Casco, L et al. Actividades genotóxica y antioxidante del extracto etanólico de flores de *Mangifera indica* L.

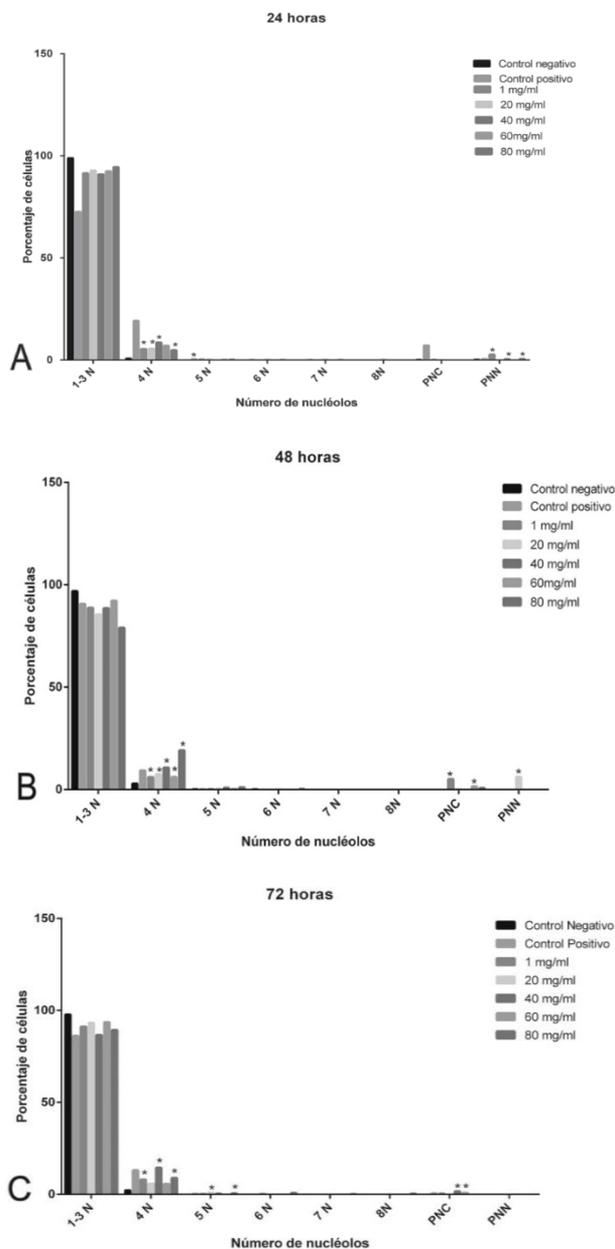


Fig. 1: Porcentajes de variaciones nucleolares correspondientes a **A-** La exposiciones de células meristemáticas de *A. cepa* al extracto etanólico de *Mangifera indica* L a distintas concentraciones por 24 horas. **B-** La exposiciones de células meristemáticas de *A. cepa* al extracto etanólico de *Mangifera indica* L a distintas concentraciones por 48 horas. **C-** La exposiciones de células meristemáticas de *A. cepa* al extracto etanólico de *Mangifera indica* L a distintas concentraciones por 72 horas.

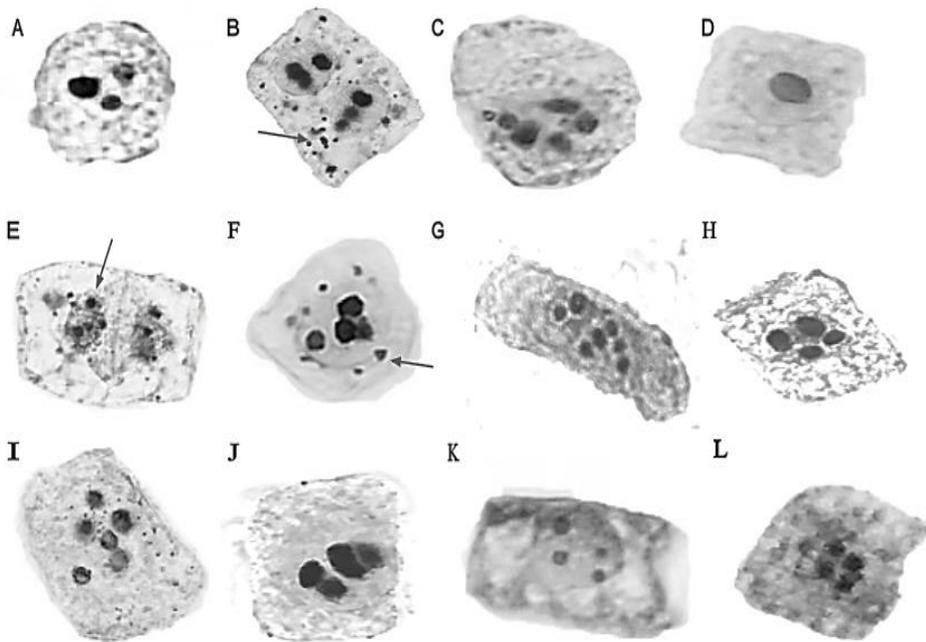


Fig. 2. **A-** Se observa célula normal con 3 nucléolos presente en el control negativo de 24 horas. **B-** Dos células con tres nucléolos que presentan partículas en el citoplasma expuestas a la concentración de 60 mg.mL^{-1} durante 48 horas. **C-** Célula con 5 nucléolos en la concentración de 20 mg.mL^{-1} a las 24 horas. **D-** Célula con 1 nucléolo en el control negativo de 48 horas. **E-** Dos células en la concentración de 80 mg.mL^{-1} a las 24 horas de exposición, que presentan partículas nucleolares en el nucleoplasma. **F-** Célula con 4 nucléolos y partículas en el citoplasma correspondiente a la concentración de 60 mg.mL^{-1} a las 72 horas. **G-** Célula con 7 nucléolos en la concentración de 20 mg.mL^{-1} a las 24 horas. **H-** Célula con 4 nucléolos en el control positivo de 48 horas. **I-** Célula con 6 nucléolos en la concentración de 80 mg.mL^{-1} a las 72 horas. **J-** Célula con 4 nucléolos en la concentración de 40 mg.mL^{-1} a las 72 horas. **K-** Célula con 4 nucléolos en el control positivo de 72 horas. **L-** Célula con 4 nucléolos en la concentración de 80 mg.mL^{-1} a las 48 horas.

Gómez Casco, L et al. Actividades genotóxica y antioxidante del extracto etanólico de flores de *Mangifera indica* L.

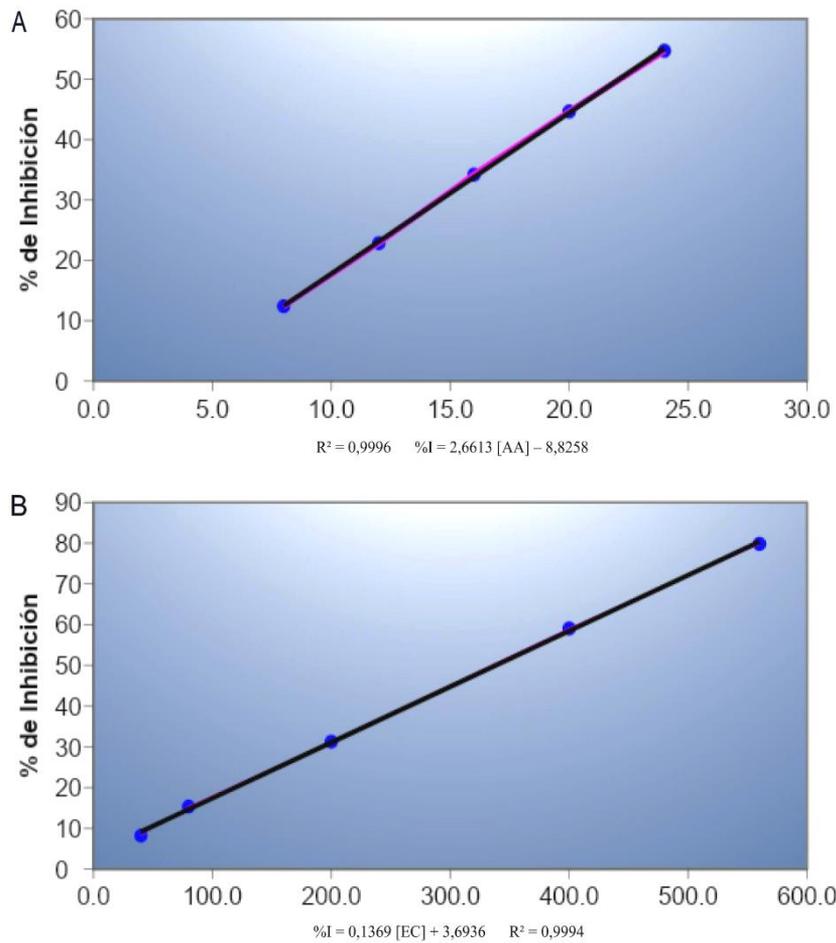


Fig. 3. A- Porcentaje de inhibición (%I) vs concentraciones de ácido ascórbico en µg. **B-** Porcentaje de inhibición (%I) vs diferentes concentraciones del extracto de *Mangifera* en µg.

CONTENIDO POR SECCIONES

Ecología

- 3-40 Densidad de plántulas en poblaciones de *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) L. H. Bailey en Paraguay.
Marín Ojeda, G.; Silla Cortés, F.

Micología

- 41-47 *Gymnopus aquosus* (Bull.) Antonín & Noordel. (Agaricales – Omphalotaceae): nuevo registro para la micobiota de Paraguay
Martínez, M. & Niveiro, N.

Palinología

- 48-55 Morfología de los granos de polen de cuatro especies de la familia Acanthaceae presentes en el Cerro koi, Areguá, Departamento Central, Paraguay
Marchi, P.; Delmás G.

Toxicología

- 56-72 Actividades genotóxica y antioxidante del extracto etanólico de flores de *Mangifera indica* L. evaluadas mediante el método de captura del radical DPPH● y detección de alteraciones nucleolares en células meristemáticas de *Allium cepa* L.
Gómez Casco, L.; Dávalos, L.; Leiva, C.; Rotela, Y.; Ucedo, A.; Valdovinos, M.; Vera, G¹; Ocampos, R., De Oliveira, R.; Ferreira, F.; Martínez, M.; Gayozo, E.; Torres, E.