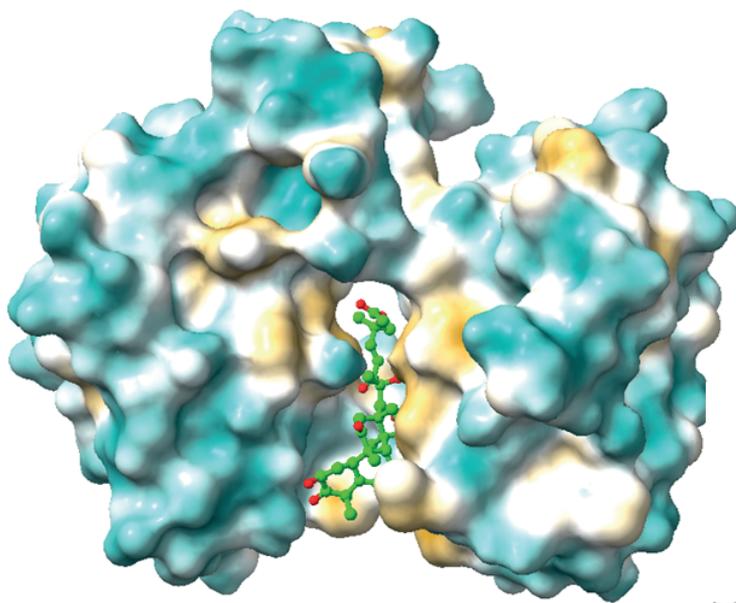


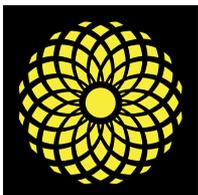
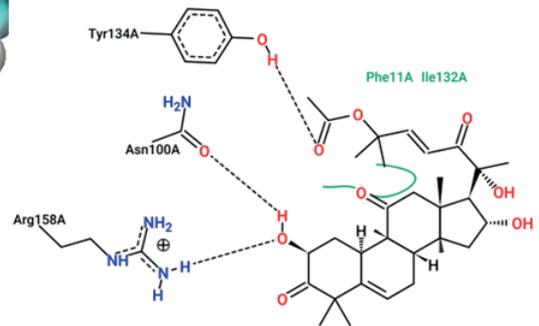
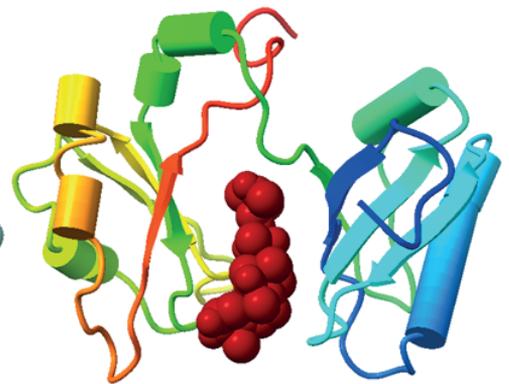
Steviana



$-9,58 \pm 0,12 \text{ kcal.mol}^{-1}$

Hidrofílico

Hidrofóbico



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 (LA-REV), 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, 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 *online* 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 desde el año 2012 en el catálogo Latindex con N° de Folio 21767, e indexada en Latindex 2.0 desde el año 2022. Así también, forma parte de las siguientes bases de datos, directorios y catálogos *online*: Crossref, ISSN, Google Académico, MIAR, BASE, Dialnet, ROAD y Biblat

La Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN) agradece a los investigadores nacionales e internacionales, que han dedicado su tiempo y esfuerzo incondicional en el arbitraje de los artículos:

NACIONALES

Danilo Fernández

Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Biotecnología. Paraguay

Christian Vogt

Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Biología. Paraguay

Karina Núñez

Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Biología. Paraguay

Francisco Ferreira

Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Laboratorio de Recursos Vegetales-área Química Orgánica de los Productos Naturales, Paraguay

Nélida Soria Rey

Universidad Nacional de Pilar. Facultad de Ciencias Aplicadas. Paraguay

Elvio Gayozo

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

Biología, Laboratorio de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, San Lorenzo, Paraguay

Antonio Samudio Oggero

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

INTERNACIONALES

Carolina Chegwin

Docente Asociada. Universidad Nacional de Colombia

Alejandro Granados

Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Orgánica, SuNaLab, Ciudad Universitaria, X5000HUA, Córdoba, Argentina. CONICET-INFIQC, Córdoba, Argentina

Gloria Rodrigo

Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Puras y Naturales, Carrera de Biología. Instituto de Biología Molecular y Biotecnología. La Paz, Bolivia



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

EQUIPO EDITORIAL

Comité Editorial

Editor

Bonifacia Benítez de Bertoni
(FACEN-LAREV-UNA)

Co-editor

María Vera Jiménez
(FACEN-LAREV-UNA)

Asistente de edición

Pamela Marchi
(FACEN-LAREV-UNA)

Comité Técnico

Diseño y diagramación

Daniel Curtido Benítez
(Dirección de Relaciones Exteriores y Difusión.
FACEN-UNA)

Redes sociales y Difusión

Pamela Marchi
(FACEN-LAREV-UNA)
Luz M. E. Martínez, Andrea Frágueda, Leticia López, Gabriel Ojeda.
(Dirección de Relaciones Exteriores y Difusión.
FACEN-UNA)

Soporte informático

Luis Martínez, Beatriz Cazal, Cinthia Franco
(Departamento de Sistemas. FACEN-UNA)

Idioma inglés

Nidia Beatriz Benítez Candia
(FACEN – UNA)

Comité Científico

Asesores Nacionales

María de Fátima Mereles H.

CEDIC, Paraguay

Gloria Yaluff

IICS, Paraguay

Claudia Pereira S.

FACEN-UNA, Paraguay

Miguel Angel Martínez

FIUNA, Paraguay

Michelle Campi G.

FACEN-UNA, Paraguay

Juana De Egea

CEDIC, Paraguay

Asesores Internacionales

Ana Ladio

INIBIOMA. Laboratorio Ecotono. Universidad Nacional del Comahue, Argentina

Fernando Silla

Universidad de Salamanca. Facultad de Biología, Área Ecología. Coordinación-Doctorado en Biología y Conservación de la Biodiversidad, España

José Iranildo Miranda de Melo

Departamento de Biología de la Universidad Estadual de Paraíba-Campina Grande, Paraíba, Brasil

DIRECCIÓN OFICIAL

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



Steviana, Vol. 14 (2) - 2022

CONTENIDO POR SECCIONES

Micoquímica

- 05-16** Explorando las propiedades de la funga neotropical: perfil químico, actividades antioxidantes y antimicrobianas de *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Ryvar den
Mancuello, C.; Benítez, D.; Maubet, Y.; Cristaldo, E. ; Veloso, B.; Ferreira, F.; Campi, M.

Genética y Biología Molecular

- 17-26** Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Plantago major* L. en el crecimiento meristemático radicular de *Allium cepa* L.
Sandoval-Velasco, J.A.

Explorando las propiedades de la funga neotropical: perfil químico, actividades antioxidantes y antimicrobianas de *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Ryvardeen

Mancuello, C.^{1*} ; Benítez, D.¹ ; Maubet, Y.¹ ; Cristaldo, E.¹ ; Veloso, B.¹ ; Ferreira, F.² ; Campi, M.^{1,8} 

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales – Área Micología. San Lorenzo, Paraguay

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales – Área Química Orgánica de los Productos Naturales. San Lorenzo, Paraguay

*E-mail del autor: clau.man87@gmail.com

Explorando las propiedades de la funga neotropical: perfil químico, actividades antioxidantes y antimicrobianas de *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Ryvardeen. *Stiptophyllum erubescens* es un basidiomiceto neotropical distribuido ampliamente en Sudamérica. Sin embargo, no se han encontrado registros de sus actividades biológicas, por lo que esta investigación constituye el primer estudio del perfil químico y las propiedades antioxidante y antimicrobiana de *S. erubescens*. Se obtuvo un extracto crudo etanólico y fracciones con disolventes de distintas polaridades (hexano, éter etílico, acetato de etilo y residuo acuoso) del basidioma silvestre. Se realizó la cuantificación de compuestos fenólicos y el ensayo de DPPH. Se analizó la composición de las fracciones con mayor concentración de fenoles y antioxidantes mediante GC-MS. Finalmente, la actividad antimicrobiana se evaluó mediante el test de discos de difusión. La mayor concentración de compuestos fenólicos y antioxidantes (172 ± 4 mg EAG g⁻¹ y 185 mg EAA g⁻¹, respectivamente) y actividad antioxidante (85%) se obtuvo en la fracción de acetato de etilo. Para las fracciones éter etílico y acetato de etilo, se determinaron por GC-MS alcanos y sus derivados, ácidos grasos, alcoholes grasos, fenoles, y un derivado del benzofurano. Se reporta por primera vez en un basidiomiceto el 5-metil-1-(2, 6, 6-trimetilciclohexa-2,4-dien-1-il) hexa-1,4-dien-3-ona. Ni el extracto crudo ni las fracciones presentaron actividad antimicrobiana.

Palabras claves: antimicrobianos, compuestos fenólicos, metabolitos secundarios

Exploring the properties of neotropical funga: chemical profile, antioxidant and antimicrobial activities of *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Ryvardeen. *Stiptophyllum erubescens* is a neotropical basidiomycete widely distributed in South America. However, no records of its biological properties were found. Therefore, this work constitutes the first study of the chemical profile and of the antioxidant and antimicrobial properties of *S. erubescens*. A crude ethanolic extract and fractions with solvents of different polarities (hexane, ethyl ether, ethyl acetate, and aqueous residue) were obtained from wild basidiomata. Total phenols content and DPPH assays were performed. GC-MS was deployed to analyze the chemical composition of the fractions with the highest concentration of phenolic and antioxidant compounds. Antimicrobial activity was evaluated through the disk diffusion test. The ethyl *Steviana*, Vol. 14 (2), 2022 pp.05-16

Original recibido el 8/11/2022

Aceptado el 31/12/2022



Todo el contenido de esta revista está bajo una Licencia Creative Commons

acetate fraction obtained the highest concentration of phenolic and antioxidant compounds (172 ± 4 mg GAE g^{-1} , and 185 mg AAE g^{-1} , respectively), and antioxidant activity (85%). Alkanes and their derivatives, fatty acids, fatty alcohols, phenols, and a benzofuran derivative were found through GC-MS in the ethyl acetate and ethyl ether fractions. For the first time in a basidiomycete, 5-methyl-1-(2, 6, 6-trimethylcyclohexa-2,4-dien-1-yl)hexa-1,4-dien-3-one is reported. Neither crude extract nor fractions showed antimicrobial activity.

Keywords: antimicrobials, phenolic compounds, secondary metabolites

INTRODUCCIÓN

Los productos naturales han sido utilizados durante siglos, no obstante, el inicio del estudio formal de las propiedades biológicas y químicas de los hongos se realizó en las últimas décadas (Zeb y Lee, 2021). En la historia evolutiva del hombre, en varias culturas alrededor del mundo, los hongos basidiomicetos han sido utilizados como fuente de comida y medicina; en la actualidad son considerados alimentos nutritivos y beneficiosos para la salud humana, al poseer compuestos bioactivos y presentar sabores únicos (Chang y Wasser, 2012; Lu et al., 2020, Zeb y Lee, 2021). Los compuestos bioactivos de interés caracterizados en los hongos basidiomicetos son: polisacáridos, glicoproteínas, ácidos grasos insaturados esenciales (palmítico, oleico y linoleico), compuestos fenólicos, esteroides de importancia (ergosterol), proteínas bioactivas (enzimas, lecitina, ergotioneína) y vitaminas (tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, niacina y tocoferol) (Ma et al., 2018; Lu et al., 2020). Algunos de los beneficios medicinales de los hongos reportados aluden a las propiedades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas, potenciadores del sistema inmunitario, antivirales, antihiperlipidiantes, anti-parasitarias y antiinflamatorias (Wasser, 2017).

El género *Stiptophyllum* fue erigido para acomodar a la especie *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Ryvar-den (Campos-Santana y Loguer-cio-Leite, 2008). Esta especie se caracteriza por presentar basidiomas estipitados, píleo y estípites

tomentoso, superficie himenial lamelar, sistema hifal trimitico y basidiosporas cilíndricas hialinas e inamiloides (Ryvar-den, 1973). *Stiptophyllum erubescens* es endémica de la región del neotrópico y ha sido reportada para Bolivia, Colombia, Perú, Venezuela, Guyana, Argentina, Paraguay y Brasil (Fidalgo, 1968; Ryvar-den, 1973; Ryvar-den, 1991; Singer, 1975; Wright y Deschamps, 1977; Bononi, 1992; Ryvar-den y Iturriaga, 2001; Popoff, 2003; Gibertoni et al., 2004; Drechsler-Santos, 2005; Campos-Santana y Loguer-cio-Leite, 2008).

El estudio de la química de los hongos en Sudamérica se encuentra subdesarrollado, no se han encontrado antecedentes bibliográficos acerca de la caracterización química y biológica de *S. erubescens*, sin embargo, en el Paraguay se ha reportado el perfil químico y biológico preliminar para la especie *Gloeophyllum striatum*, un género cercano de *Stiptophyllum* (Campi et al., 2019). Con el avance del estudio taxonómico, la resolución de conflictos sistemáticos y el descubrimiento de nuevas especies de macrohongos en el neotrópico, surge la necesidad de integración de áreas de estudio, con el fin de consolidar el análisis interdisciplinario de la Funga de la región, en búsqueda de recursos endógenos útiles para el hombre. Siguiendo con la línea de investigación que trata de la exploración de las propiedades de los hongos nativos del Paraguay, la hipótesis presentada es que el género *Stiptophyllum* posee propiedades biológicas, por ende, el objetivo principal del trabajo fue la caracteri-

zación química y el análisis de las propiedades biológicas (antioxidantes y antimicrobianas) de la especie endémica *S. erubescens*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Determinación taxonómica de la especie

Las muestras fueron colectadas en el Parque Nacional Ybycuí, Departamento Paraguari (25°40'33''S 56°55'10''W), el 14 de mayo del 2019. La referencia de herbario fue depositada en el Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales FACEN N°4378 (MC421). La especie fue identificada de acuerdo a sus características morfológicas macroscópicas y microscópicas. Para los análisis microscópicos se realizaron cortes a mano alzada del basidioma maduro y fueron montadas en hidróxido de potasio acuoso (2%), para la tinción de las estructuras microscópicas, se utilizó Floxina y Rojo Congo y para las reacciones químicas se utilizó reactivo de Melzer, siguiendo los lineamientos de Robledo et al. (2020).

Extracción

La extracción se realizó mediante maceración exhaustiva del basidioma seco pulverizado con etanol al 96%, bajo agitación periódica, durante un período de 48 horas, luego cada 24 horas hasta completar 3 extracciones. Se filtró el extracto y se evaporó el disolvente con rotavapor (Rotav, China) hasta la obtención del extracto crudo, el cual fue almacenado en frasco de vidrio a $4 \pm 0,5$ °C hasta su utilización (Tiwari et al., 2011 con modificaciones). Para las fracciones, 3 g del extracto crudo se suspendieron en 200 mL de agua destilada y se sometió a una extracción secuencial líquido-líquido con hexano, éter etílico y acetato de etilo (3×100 ml cada uno).

Ensayos cualitativos

Las pruebas cualitativas se realizaron según la metodología descrita por Tiwari et al. (2011)

con algunas modificaciones. Se prepararon soluciones del extracto etanólico las cuales se sometieron a las siguientes pruebas: Dragendorff, Wagner y Mayer para alcaloides; Liebermann-Burchard y Salkowski para triterpenos y esteroides; y Fehling para azúcares reductores. Cada prueba se realizó por triplicado y se comparó con una muestra control positiva (codeína para alcaloides, colesterol para triterpenos y esteroides, glucosa para azúcares reductores) y negativa (disolvente). Se utilizó como criterio de evaluación de los resultados, con relación al control positivo, lo siguiente: (+) = coloración tenue, (++) = coloración media, (+++) = coloración intensa, (-) = sin cambio de coloración.

Cuantificación de compuestos fenólicos totales

La concentración de fenólicos totales se determinó de acuerdo al método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Turkoglu et al., 2007 con modificaciones). Se preparó una solución metanólica del extracto crudo de 1 mg mL^{-1} de concentración, y se transfirieron $200 \mu\text{L}$ de esta a un matraz aforado de 10 mL. Seguido, se le agregaron al matraz 2 mL de agua destilada y $200 \mu\text{L}$ del reactivo Folin Ciocalteu 2N; la mezcla fue homogeneizada y guardada por 5 minutos en oscuridad, luego se adicionaron 1,5 mL de una solución de carbonato de sodio al 20%, y cada matraz fue llevado a volumen con agua destilada. Como blanco se utilizaron $200 \mu\text{L}$ de metanol tratado con el mismo procedimiento. Las muestras fueron homogeneizadas y después de 1 hora de reposo en la oscuridad se leyó la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro utilizando una celda de 1 cm de paso óptico (GENESYS 140 Vis de Thermo Scientific). Para construir la curva de calibración se utilizó solución de ácido gálico de concentración 1 mg mL^{-1} (Sigma-Aldrich®), a partir de la cual se tomaron alícuotas para obtener soluciones con concentraciones comprendidas en un rango de $0,5$ a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ en matraces de 10 mL (enumerados), los cuales recibieron el mismo

tratamiento que el extracto crudo. La concentración de compuestos fenólicos totales se informa a partir de la curva de calibración como equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg EAG g⁻¹). La determinación se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como la media ± desviación estándar (DE).

Evaluación de la actividad antioxidante

Se determinó mediante el método de absorbancia de radicales DPPH• según Campi et al. (2021). Del extracto crudo se prepararon 10 mL de una solución metanólica de concentración 1 mg mL⁻¹, de la cual se tomaron 100 µL que se adicionaron a 3,9 mL de solución metanólica del radical DPPH• (Merck) (0,02 mg mL⁻¹), como control negativo fueron utilizados 100 µL de metanol adicionados a 3,9 mL de solución metanólica del radical DPPH•. La muestra fue homogeneizada y se dejó reposar en oscuridad durante 1 hora. La reducción del reactivo se evidenció a simple vista por el cambio de coloración de violeta oscuro a amarillo claro. Cuantitativamente el cambio de absorbancia fue medido con un espectrofotómetro UV-VIS (Thermo SCIENTIFIC Modelo Genesis 10S) a 517 nm. Para la curva de calibración se utilizó solución metanólica de ácido ascórbico con una concentración de 1 mg mL⁻¹, a partir del cual, se prepararon diluciones en un rango de 10 a 100 µg mL⁻¹, de cada dilución se tomaron 100 µL que recibieron el mismo tratamiento que la muestra. Con los resultados de la curva se determinó la concentración equivalente de ácido ascórbico. La concentración de compuestos antioxidantes totales se informa a partir de la curva de calibración como equivalentes de ácido ascórbico por gramo de extracto (mg EAA g⁻¹). La determinación se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como la media ± desviación estándar (DE). Para el cálculo del porcentaje de actividad se empleó la siguiente fórmula:

$$A = \frac{\lambda_{DPPH} - \lambda_{Solución}}{\lambda_{DPPH}} \times 100$$

Donde λ_{DPPH} y $\lambda_{Solución}$ son la absorbancia del radical DPPH y la solución respectivamente.

Determinación de compuestos por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS)

El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) se realizó en un equipo Shimadzu Modelo 2010 Plus para las fracciones con mayor contenido de fenoles totales y antioxidantes. Se utilizó una columna capilar con soporte de sílica fundida columna SLB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) y Helio como gas de arrastre con una pureza de 5,0 y a un flujo en columna de 0,87 mL min⁻¹; el espectrómetro de masas estaba equipado con una fuente de ionización de 70 eV y un filamento de 60 µm mantenido a 300°C. La temperatura varió desde 90°C hasta 310°C a 10°C por minuto. Condiciones del horno de la columna: inicial a 60°C por 4 minutos, luego un calentamiento a razón de 6 °C/min hasta los 280°C y a esta temperatura permaneció constante por 20 min; tiempo total de análisis es de 60 min; puerto de inyección a 250°C; modo de inyección Splitless relación 20:1; volumen de inyección fue de 1 µL; sistema de detección por espectrometría de masas en modo full scan 55 – 550 m/z con una temperatura de la fuente de 250°C y una temperatura de la línea de transferencia de 250°C. El porcentaje de homología para la identificación de los compuestos con la librería National Institute of Standards and Technology (NIST) fue de mínimo 80%.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana se determinó por el método de disco difusión modificado

de Bauer et al. (1966). Utilizando metanol p.a. como disolvente, se prepararon dos concentraciones distintas del extracto fúngico, 10 mg mL⁻¹ y 50 mg mL⁻¹, y una sola concentración para las fracciones, 1 mg mL⁻¹. Como control negativo se usó el disolvente y como positivo (inhibición del crecimiento) los antibióticos Meropenem (50 mg mL⁻¹) para bacterias Gram negativas, Ciprofloxacina (25 mg mL⁻¹) para bacterias Gram positivas y Nistatina (20 mg mL⁻¹) para hongos. Los discos de papel estériles (discos blanco de 6 mm de diámetro, LIOFILCHEM®) se impregnaron con 10 µL de las soluciones a probar (extractos, fracciones, controles) y se dejaron secar hasta la completa evaporación del disolvente. Los microorganismos de prueba fueron *Escherichia*

coli WDCM 00012, *Salmonella enterica* WDCM 00031, *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00026, *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705, *Enterococcus faecalis* WDCM 00087, *Staphylococcus epidermidis* WDCM 00036, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Candida albicans* WDCM 00054. De los mismos, se prepararon en Caldo Mueller-Hinton estéril (MHB) (OXOID, 21 g L⁻¹), inóculos ajustados a la turbidez de 0,5 McFarland (10⁸ UFC mL⁻¹) mediante un densitómetro (DEN-1 Biosan). La inoculación se llevó a cabo con hisopo en placas con medios estériles, Agar Mueller-Hinton (MHA) (OXOID, 38 g L⁻¹) para bacterias y Agar Sabouraud Dextrosa (SDA) (MERCK, 65 g L⁻¹) para *Candida*. Se colocaron los discos sobre la superficie del agar y se dejaron



Figura 1. a y b) *Stiptophyllum erubescens* basidioma maduro fresco. c) Sección transversal del basidioma. d) Himenóforo lamelar

reposar 15 minutos para la difusión de los antimicrobianos. Las placas se incubaron en posición invertida a 37 °C durante 18-24 horas (35°C durante 20-24 h para *Candida*) y se midieron los diámetros de las zonas de inhibición. Cada prueba se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como el promedio del diámetro de los halos de inhibición para cada tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Taxonomía

Los caracteres morfológicos macro y microscópicos observados coinciden con las descripciones bibliográficas (Campos-Santana y Loguercio-Leite, 2008). Macroscópicamente, la especie se caracteriza por presentar basidiomas pileados (Figura 1), estípite central duro, inicialmente velutinoso a longitudinalmente sulcado, un pseudoesclerocio en la base y el cambio de coloración del píleo al contacto con una solución básica (KOH 3%) (Ryvarden, 1973). Microscópicamente se caracteriza por el sistema hifal trimítico y basidiosporas de 9–12 × 3–4(–5) μm, cilíndricas a elipsoide, hialinas a levemente amarillentas, de pared delgada, inamiloides (Campos-Santana y Loguercio-Leite, 2008).

Ensayos cualitativos

Del análisis cualitativo del extracto crudo de *Stiptophyllum erubescens* (Tabla 1), se obtu-

vieron resultados positivos para triterpenos, esteroides y azúcares reductores, y negativo para alcaloides. No se encontraron registros bibliográficos sobre el perfil cualitativo de metabolitos secundarios de la especie en estudio, sin embargo se ha reportado la presencia de compuestos terpenoides y alcaloides para la especie *Gloeophyllum striatum*, una especie filogenéticamente cercana (Campi et al., 2019).

Fenoles totales y actividad antioxidante

Las mayores concentraciones de compuestos fenólicos totales (CFT), concentración y actividad de compuestos antioxidantes (CAA) se obtuvieron en el extracto crudo y fracción de acetato de etilo (Tabla 2). Con respecto a la CFT los valores registrados fueron de 132 mg EAG g⁻¹ y 172 mg EAG g⁻¹ respectivamente, para la CAA se obtuvieron valores de 84 mg EAA g⁻¹ con 57% de actividad y 185 mg EAA g⁻¹ y 85%. Se observa una correlación directa entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante. No se encontraron referencias bibliográficas sobre la cuantificación de compuestos fenólicos y antioxidantes para la especie *S. erubescens*, sin embargo, se reportaron valores menores para especies cercanas. Se describe una CFT de 17 ± 2 mg EAG g⁻¹ para el extracto etanólico de *Gloeophyllum striatum* (Campi et al., 2019) y 20 ± 2 mg EAG g⁻¹ para el extracto de *Gloeophyllum sepiarium* (Sulkowska-Ziaja et al., 2012). Con respecto a la

TABLA 1. Resultados de los ensayos cualitativos del extracto etanólico de *Stiptophyllum erubescens*

Grupo	Prueba	Extracto etanólico
<i>Alcaloides</i>	Dragendorff	-
	Wagner	-
	Mayer	-
<i>Triterpenos y esteroides</i>	Liebermann-Burchard	+++
	Salkowski	+++
<i>Azúcares reductores</i>	Fehling	++

(+) Coloración tenue, (++) Coloración media, (+++) Coloración intensa, (-) Ausencia

TABLA 2. Resultados de la evaluación de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante realizados al extracto crudo y fracciones de *Stiptophyllum erubescens*

Extracto y fracciones	Compuestos fenólicos (mg EAG g ⁻¹ ± DE)	Antioxidantes (mg EAA g ⁻¹ ± DE)	Actividad antioxidante (% ± DE)
Extracto crudo	132 ± 2	84 ± 2	57 ± 2
Fracción hexano (H)	12 ± 2	9 ± 1	2 ± 0
Fracción éter etílico (EE)	52 ± 1	78 ± 2	38 ± 1
Fracción acetato de etilo (AE)	172 ± 4	185 ± 0	85 ± 0
Fracción residual acuosa	30 ± 1	37 ± 1	17 ± 1

EAG = Equivalente a ácido gálico; EAA = Equivalente a ácido ascórbico; DE = Desviación estándar

CAA, se reportaron valores de 10 ± 1 mg EAA g⁻¹ y 7% de actividad para *Gloeophyllum striatum* (Campi et al., 2019).

Compuestos determinados por GC-MS

En la fracción éter etílico (EE) se detectaron 16 compuestos (Tabla 3). Se encontró un derivado del benzofurano, el 2,3-dihidrobenzofurano (Figura 2a), este grupo se caracteriza por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y anticancerosas (Miao et al., 2019; Khatana y Gupta, 2020). Otra molécula detectada fue el ácido cinámico (Figura 2b), reportado entre los compuestos fenólicos más abundantes para la especie *Ganoderma lucidum* (Heleno et al., 2012), además de otras especies de macromicetos (Barros et al., 2009). También se confirma la presencia de 1-nonadeceno compuesto con actividad antimicrobiana (Balachandar et al., 2018; Chowdhary y Kaushik, 2018) y 1-heptacosanol para el cual se informa actividad antimicrobiana y antioxidante (Imada, 2005). Se reporta por primera vez para un basidiomiceto la presencia de 5-metil-1-(2,6,6-trimetilciclohexa-2,4-dien-1-il)hexa-1,4-dien-3-ona, un sesquiterpeno aislado anteriormente de las hojas y ramas de *Flourensia cernua* DC; la naturaleza y actividad de este compuesto aún no han sido descritas (Jasso de Rodríguez

et al., 2017), sin embargo, se ha comprobado la actividad antimicrobiana de sesquiterpenos en aceites esenciales del género de plantas *Stachys* (Goren et al., 2011).

Para la fracción de acetato de etilo (AE) se determinaron 17 compuestos (Tabla 4), entre los que se encuentran los anteriormente mencionados para EE (2,3-dihidrobenzofurano, ácido cinámico, 1-nonadeceno y 1-heptacosanol) y el ácido 9,12-octadecadienoico (ácido linoleico), para el cual se ha reportado que tienen actividad antimicrobiana (Wei et al., 2011) y es un importante ácido graso esencial ω-6 presente en la mayoría de las especies de hongos (Sande et al., 2019). Si bien por el método colorimétrico se informa una presencia considerable de compuestos fenólicos para la fracción AE, en el análisis de GC-MS solo se logró detectar ácido cinámico, esto podría deberse a la alta polaridad y baja volatilidad de los fenoles que dificultan su estudio por GC-MS. Respecto a los triterpenos y esteroides, estas no se detectaron en las fracciones EE y AE, probablemente fueron extraídas en su mayoría en la fracción hexánica al ser afines a los disolventes apolares, además de ser también compuestos de baja volatilidad.

TABLA 3. Perfil cromatográfico de las moléculas determinadas de la fracción éter etílico de *Stiptophyllum erubescens*

% Homología	PM	FM	% Abundancia	Tiempo de Retención (min)	Molécula
92	140	C ₁₀ H ₂₀	3,18	7,248	5-Deceno
94	140	C ₁₀ H ₂₀	1,64	8,701	5-metil- 4-Noneno
91	172	C ₁₁ H ₂₄ O	1,06	12,828	1-Undecanol
98	168	C ₁₂ H ₂₄	6,58	14,545	1-Dodeceno
92	120	C ₈ H ₈ O	1,64	15,453	2,3-dihidrobenzofurano
92	196	C ₁₄ H ₂₈	1,58	16,513	3-Tetradeceno
92	154	C ₁₁ H ₂₂	1,79	18,257	1-Undeceno
97	196	C ₁₄ H ₂₈	15,59	19,330	1-Tetradeceno
97	148	C ₉ H ₈ O ₂	3,66	20,457	Ácido Cinámico
97	227	C ₁₅ H ₃₃ N	2,44	25,722	N,N-dimetil-1-Tridecanamina
97	238	C ₁₇ H ₃₄	13,45	27,247	1-Heptadeceno
96	266	C ₁₉ H ₃₈	9,99	30,623	1-Nonadeceno
92	308	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	1,05	33,222	9,12-Octadecadienoato de etilo
96	354	C ₂₄ H ₅₀ O	5,44	33,699	1-Tetracosanol
95	396	C ₂₇ H ₅₆ O	2,64	36,522	1-Heptacosanol
90	230	C ₁₆ H ₂₂ O	1,26	37,044	5-metil-1-(2,6,6-trimetilciclohexa-2,4-dien-1-il)hexa-1,4-dien-3-ona

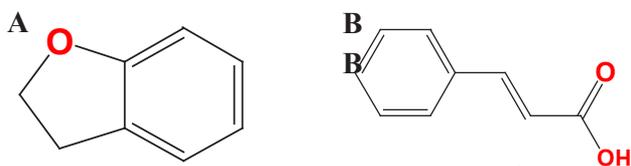


Figura 2. Estructura química de: A) 2,3-dihidrobenzofurano y B) Ácido cinámico.

TABLA 4. Perfil cromatográfico de las moléculas determinadas de la fracción acetato de etilo de *Stiptophyllum erubescens*

% Homología	PM	FM	% Abundancia	Tiempo de Retención (min)	Molécula
91	140	C ₁₀ H ₂₀	3,05	7,249	5-Deceno
94	140	C ₁₀ H ₂₀	1,64	8,703	5-metil-4-Noneno
91	140	C ₁₀ H ₂₀	1,02	9,077	4-Deceno
98	168	C ₁₂ H ₂₄	0,92	12,827	1-etil-2-heptil-Ciclopropano
97	168	C ₁₂ H ₂₄	5,78	14,550	1-Dodeceno
91	120	C ₈ H ₈ O	1,09	15,461	2,3-dihidrobencofurano
91	196	C ₁₄ H ₂₈	1,39	16,514	3-Tetradeceno
94	196	C ₁₄ H ₂₈	1,55	18,258	1,1,2-trimetil-Cicloundecano
97	182	C ₁₃ H ₂₆	12,99	19,332	1-Trideceno
98	282	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	2,50	20,425	Ácido Cinámico
97	266	C ₁₉ H ₃₈	11,56	27,248	1-Nonadeceno
93	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1,64	30,161	Ácido n-Hexadecanoico
84	298	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	13,64	30,625	14-metil-Hexadecanoato de etilo
96	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1,10	32,858	Ácido 9,12-Octadecadienoico
93	308	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	10,07	33,224	Linoleato de etilo
95	396	C ₂₇ H ₅₆ O	5,16	33,697	1-Heptacosanol
96	354	C ₂₄ H ₅₀ O	2,47	36,520	Alcohol Lignocérico

Actividad antimicrobiana

A pesar de la detección de compuestos antimicrobianos previamente citados en la bibliografía (2,3-dihidro-benzofurano, ácido cinámico, sesquiterpenos) (Jasso de Rodríguez et al., 2017, Miao et al., 2019; Khatana y Gupta, 2020), el ensayo preliminar de propiedades antimicrobianas con la técnica de disco difusión reportó resultados negativos para el extracto crudo y las fracciones ensayadas de la especie *S. erubescens*. Esta técnica puede verse afectada por la polaridad y el peso molecular de los compuestos, siendo los menos polares y los de alto peso molecular los que difunden más lentamente en medios basados en agar (Humphries et al., 2013; Moreno et al., 2006). No se encontraron registros bibliográficos acerca de las propiedades antimicrobianas

de la especie *S. erubescens*, sin embargo, especies cercanas como *Gloeophyllum odoratum* y *Gloeophyllum sepiarium* presentaron actividad antimicrobiana contra varias cepas de bacterias y hongos, entre ellas *Staphylococcus aureus* y *Candida* spp (Ranadive et al., 2013; Lira et al., 2020).

CONCLUSIONES

El estudio de los hongos, desde el punto de vista taxonómico, químico y biológico, se encuentra subdesarrollado en el neotrópico. *Stiptophyllum erubescens* es endémica de la región neotropical y se describe por primera vez desde el punto de vista químico y biológico. Los ensayos cualitativos revelaron la presencia de triter-

penos, esteroles y azúcares reductores, además se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos, siendo el más elevado 172 ± 4 mg EAG g^{-1} para la fracción de acetato de etilo (AE), que también presentó la actividad antioxidante más alta, con 185 mg EAA g^{-1} y 85% de actividad, observándose una correlación directa entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante. Mediante GC-MS se detectaron 16 compuestos en la fracción EE y 17 en la fracción AE, reportándose por primera vez para un basidiomiceto el 5-metil-1-(2,6,6-trimetilciclohexa-2,4-dien-1-il) hexa-1,4-dien-3-ona. Además se reporta el ácido 9,12-octadecadienoico, un importante ácido graso esencial ω -6. En la evaluación antimicrobiana preliminar, el extracto etanólico y las fracciones no presentaron actividad contra ninguno de los microorganismos de prueba. Estos resultados confirman que *Stiptophyllum erubescens* puede ser una fuente importante de antioxidantes naturales. Se recomienda futuros estudios utilizando micelio en cultivo líquido para comprobar la variación de la producción de metabolitos en condiciones controladas de su desarrollo. Además de la implementación de otros métodos de aislamiento y determinación para los compuestos fúngicos polares y de baja volatilidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la financiación de este trabajo mediante el proyecto PINV18-685 “Evaluación y caracterización de la actividad antibacteriana, antimicótica y antiparasitaria en extractos de macrohongos nativos del Paraguay” y a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción (FACEN-UNA) que apoyó con las instalaciones utilizadas en este proyecto. Agradecen también a FungiParaguay y Fungicosmos por su apoyo y revisiones que ayudaron a mejorar el contenido y la redacción de este artículo.

APORTES DE LOS AUTORES

Todos los autores realizaron aportes significativos a este trabajo, participando en su planificación y ejecución, así como en la interpretación de los resultados y la escritura del manuscrito. Asimismo, están de acuerdo con su publicación.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores manifiestan que no existe conflicto de interés en este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balachandar, R., Karmegam, N., Saravanan, M., Subbaiya, R., & Gurumoorthy, P. (2018). Synthesis of bioactive compounds from vermicast isolated actinomycetes species and its antimicrobial activity against human pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 121, 155-165. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.027>
- Barros, L., Dueñas, M., Ferreira, I. C., Baptista, P., & Santos-Buelga, C. (2009). Phenolic acids determination by HPLC-DAD-ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1076-1079. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.039>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4), 493-496.
- Bononi, V. L. (1992). Fungos macroscopicos de Rio Branco, Acre, Brasil. *Hoehnea*, 19, 31-37.
- Campi, M., Mancuello, C., Ferreira, F., Maubet, Y., Cristaldo, E., & Benítez, D. (2019). Preliminary evaluation of phenolic compounds, antioxidant activity and bioactive compounds in some species of basidiomycetes fungi from Paraguay. *Steviana*, 11(1), 26-41. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.039>

- org/10.56152/ffs.v11i1.1033
- Campi, M., Mancuello, C., Ferreira, F., Maubet, Y., Cristaldo, E., & Robledo, G. (2021). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Four Native Species of the Ganodermataceae Family (Agaricomycetes) from Paraguay. *International journal of medicinal mushrooms*, 23(8), 65–76. <https://doi.org/10.1615/IntJ-MedMushrooms.2021039298>
- Campos-Santana, M., & Loguercio-Leite, C. (2008). A note on *Stiptophyllum erubescens*. *Mycotaxon*, 106, 127–132.
- Chang, S. T., & Wasser, S. P. (2012). The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *International journal of medicinal mushrooms*, 14(2), 95–134. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v14.i2.10>
- Chowdhary, K., & Kaushik, N. (2018). Biodiversity study and potential of fungal endophytes of peppermint and effect of their extract on chickpea rot pathogens. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 51, 139-155. <https://doi.org/10.1080/03235408.2018.1440707>
- Drechsler-Santos RS. (2005). Inventário de Basidiomycetes Lignolíticos em Santa Catarina: Guia Eletrônico. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Universidade Federal de Santa Catarina.
- Fidalgo, M.E.P.K. (1968). Contribution to the fungi of Mato Grosso, Brasil. *Rickia*, 3, 171-219.
- Gilbertoni, T.B., Ryvarden, L., & Cavalcanti, M.A.Q. (2004). Studies in neotropical polypores 18. New species from Brazil. *Synopsis Fungorum*, 18, 44–56.
- Goren, A. C., Piozzi, F., Akcicek, E., Kılıç, T., Çarıkçı, S., Mozioglu, E., & Setzer, W. N. (2011). Essential oil composition of twenty-two *Stachys* species (mountain tea) and their biological activities. *Phytochemistry Letters*, 4(4), 448-453. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.04.013>
- Heleno, S. A., Barros, L., Martins, A., Queiroz, M. J. R., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2012). Fruiting body, spores and in vitro produced mycelium of *Ganoderma lucidum* from Northeast Portugal: A comparative study of the antioxidant potential of phenolic and polysaccharidic extracts. *Food Research International*, 46(1), 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.009>
- Humphries, R. M., Pollett, S., & Sakoulas, G. (2013). A current perspective on daptomycin for the clinical microbiologist. *Clinical microbiology reviews*, 26(4), 759–780. <https://doi.org/10.1128/CMR.00030-13>
- Imada, C. (2005) Enzyme inhibitors and other bioactive compounds from marine Actinomycetes. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 87(1), 59–63. <https://doi.org/10.1007/s10482-004-6544-x>
- Jasso de Rodríguez, D., Salas-Méndez, E. de J., Rodríguez-García, R., Hernández-Castillo, F. D., Díaz-Jiménez, M. L. V., Sáenz-Galindo, A., González-Morales, S., Flores-López, M.L., Villarreal-Quintanilla, J.A., Peña-Ramos, F.M., & Carrillo-Lomelí, D. A. (2017). Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia* spp. against postharvest fungi. *Industrial Crops and Products*, 107, 499–508. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.054>
- Khatana, K. & Gupta, A. (2020). An update on natural occurrence and Biological Activity of Benzofurans. *Acta Scientific Medical Sciences*, 4(10), 114-123.
- Lira, M. H. P. D., Andrade Júnior, F. P. D., Moraes, G. F. Q., Macena, G. D. S., Pereira, F. D. O., & Lima, I. O. (2020). Antimicrobial activity of geraniol: an integrative review. *Journal of Essential Oil Research*, 32(3), 187-197. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1745697>
- Lu, H., Lou, H., Hu, J., Liu, Z., & Chen, Q. (2020). Macrofungi: A review of cultivation strategies, bioactivity, and application of mushrooms. *Comprehensive reviews in food*

● ● ● **Mancuello, C. et al. Perfil químico, actividades antioxidantes y antimicrobianas de *Stiptophyllum erubescens***

- science and food safety*, 19(5), 2333-2356. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12602>
- Ma, Gaoxing; Wenjian, Yang; Liyan, Zhao; Fei, Pei; Donglu, Fang; Qiuhui, Hu (2018). A Critical Review on the Health Promoting Effects of Mushrooms Nutraceuticals. *Food Science and Human Wellness* 7, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.05.002>
- Miao, Y. H., Hu, Y. H., Yang, J., Liu, T., Sun, J., & Wang, X. J. (2019). Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives. *RSC advances*, 9(47), 27510-27540.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S., & Vojnov, A. A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free radical research*, 40(2), 223–231. <https://doi.org/10.1080/10715760500473834>
- Popoff, O.F. (2003). Notes on *Daedalea erubescens*, *Hexagonia decipiens* and the *Phaeotrametaceae*. *Mycotaxon*, 87, 103-108.
- Ranadive, K. R., Belsare, M. H., Deokule, S. S., Jagtap, N. V., Jadhav H.K., & Vaidya J.G. (2013). Glimpses of antimicrobial activity of fungi from World. *Journal on New Biological Reports*, 2(2), 142–162.
- Robledo, G.L., Palacio, M., Urcelay, C., Vasco-Palacios, A.M., Crespo, E., Popoff, O., Pöldmaa, K., Ryvarden, L., & Costa-Rezende, D.H. (2020). Mystery unveiled: Diacanthodes Singer – a lineage within the core polyporoid clade. *Systematics and Biodiversity*, 18(6), 538-556. <https://doi.org/10.1080/14772000.2020.1776784>
- Ryvarden, L. (1973). *New Genera in the Polyporaceae*. *Norwegian Journal of Botany*, 20, 1–5.
- Ryvarden, L. (1991). Genera of Polypores – Nomenclature and taxonomy. *Synopsis Fungorum*, 5, 1–363.
- Ryvarden, L., Iturriaga, T. (2001). Studies in Neotropical Polypores 9. A Critical Checklist of Poroid Fungi from Venezuela. *Mycotaxon*, 78, 393–405.
- Sande, D., Oliveira, G.P., Moura, M.A., Martins, B.D., Lima, M.T., & Takahashi, J.A. (2019). Edible mushrooms as a ubiquitous source of essential fatty acids. *Food research international*, 125, 108524. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108524>
- Sulkowska-Ziaja, K., Muszynska, B., Motyl, P., Pasko, P., & Ekiert, H. (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity in some species of polyporoid mushrooms from Poland. *International journal of medicinal mushrooms*, 14(4), 385–393. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v14.i4.60>
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale pharmaceutica scientia*, 1(1), 98-106.
- Turkoglu, A., Duru, M. E., Mercan, N., Kivrak, I., & Gezer, K. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry*, 101(1), 267-273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.025>
- Wei, L. S., Wee, W., Siong, J. Y., & Syamsumir, D. F. (2011). Characterization of anticancer, antimicrobial, antioxidant properties and chemical compositions of *Peperomia pellucida* leaf extract. *Acta medica Iranica*, 49(10), 670–674.
- Wright, J.E., & Deschamps, J.R. (1977). Basidiomicetos xilófilos de la Región Mesopotámica III. Los Géneros *Bjerkandera*, *Gloeophyllum*, *Gloeoporus*, *Hirschioporus*, *Hydnopolyporus*, *Phaeocoriolellus*, *Pycnoporus* y *Xerotinus*. *Revista de Investigaciones Agropecuarias INTA* 5, 13(1), 27–70.
- Zeb, M., & Lee, C.H. (2021). Medicinal Properties and Bioactive Compounds from Wild Mushrooms Native to North America. *Molecules*, 26(2), 251. <https://doi.org/10.3390/molecules26020251>

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Plantago major* L. en el crecimiento meristemático radicular de *Allium cepa* L.

Sandoval-Velasco, J.A. 

Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Adventista de Chile; Chillán, Chile

E-mail del autor: josandoval@ubiobio.cl

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Plantago major* L. en el crecimiento meristemático radicular de *Allium cepa* L. El uso de productos naturales, como el extracto de Llantén (*Plantago major*), ha generado un aumento en la comercialización de sustancias, que en algunos casos no son estudiadas en lo referido a sus eventuales efectos tóxicos. Se estudió del efecto del extracto etanólico de Llantén (*P.major*) sobre el crecimiento radicular, mediante la técnica estandarizada de aplastamiento de células meristemáticas radiculares de *Allium cepa*. Se usó extracto comercial etanólico Knop® (30 mg/mL de concentración). Se estableció un sistema de crecimiento de raíces, bajo condiciones controladas de temperatura, oxigenación y oscuridad. Se establecieron 3 grupos (Control Negativo, Grupo Experimental con Tiempo creciente y Grupo con Dosis creciente de 0,75 mg/mL, 1,5 mg/mL, 7,5 mg/mL, 15 mg/mL y 30 mg/mL). Previamente se evaluó la dosis óptima para el estudio. Se utilizaron 18 bulbos de *Allium cepa*, con 3 bulbos para cada grupo de estudio. La exposición al extracto etanólico fue a las 24, 48, 72, 96 y 120 h. Se hicieron los aplastados y tinción con orceína acetoclorhídrica. Se observaron y contaron 1000 células por cada placa. Se analizaron los valores obtenidos mediante comparación de medias y test de ANOVA. Se discutió y analizó los resultados en función del efecto del *P.major*, sobre variaciones del ciclo celular e índice mitótico. Los resultados obtenidos indican que el extracto etanólico de *P.major* en concentraciones superiores a 7,5 mg/mL resulta ser citotóxico para los meristemas radiculares; y que a partir de las 48 h de exposición al extracto, la proliferación celular se reduce drásticamente.

Palabras claves: productos naturales, citotoxicología, meristema

Inhibitory ethanolic extract of *Plantago major* L. inhibitory effect on radicular meristematic growth of *Allium cepa* L. The use of natural products, such as plantain (*Plantago major*) extract, has generated an increase in the commercialization of substances, which in some cases are not studied for their possible toxic effects. The effect of the ethanolic extract of plantain (*P. major*) on root growth was studied using the standardized technique of crushing root meristematic cells of *Allium cepa*. Knop® commercial ethanolic extract (30 mg/mL concentration) was used. A root growth system was established under controlled conditions of temperature, oxygenation and darkness. Three groups were established (Negative Control, Experimental Group with increasing time and Group with increasing dose of 0.75 mg/mL, 1.5 mg/mL, 7.5 mg/mL, 15 mg/mL and 30 mg/mL). The optimal dose for the study was evaluated beforehand. Eighteen *Allium cepa* bulbs were used, with 3 bulbs for each study

Steviana, Vol. 14 (2), 2022 pp.17-26

Original recibido el 13/10/2022

Aceptado el 31/12/2022



Todo el contenido de esta revista está bajo una Licencia Creative Commons

group. The exposure to the ethanolic extract was at 24, 48, 72, 96 and 120 h. Crushing and staining with acetochlorohydric orcein were performed. A thousand cells per plate were observed and counted. The values obtained were analyzed through of mean comparison and ANOVA test. The results were discussed and analyzed in terms of the effect of *P.major* on cell cycle variations and mitotic index. The results obtained indicate that the ethanolic extract of *P. major* at concentrations higher than 7.5 mg/mL are cytotoxic to root meristems; and that after 48 h of exposure to the extract, cell proliferation is drastically reduced.

Key words: natural products, cytotoxicology, meristem

INTRODUCCIÓN

El uso masivo de sustancias en base a extractos de origen natural con propiedades antiinflamatorias, antihistamínicas y antisépticas se ha incrementado, principalmente con la finalidad de aliviar dolencias y enfermedades (Obregón, 2001; Gutiérrez, 2014). En la mayoría de los casos este tipo de sustancias se comercializan sin previos estudios de toxicidad, lo que pone en riesgo la salud de las personas que las utilizan (Alfredo et al., 2009; Luz et al., 2012). Sin embargo, la larga historia de la medicina tradicional demuestra el potencial de las plantas como fuente de compuestos bioactivos (Kaewpiboon et al., 2012). De acuerdo con, la Organización Mundial de la Salud, el 80% de la población del mundo usa plantas medicinales como una alternativa o procedimiento complementario para el tratamiento de sus enfermedades (Golberg, 2015).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) realizó un catastro de los productos naturales con efectos dañinos a la salud, donde las plantas aparecen indicadas en las farmacopeas de 73 países. Del total de ellas, *Plantago major* aparece citada en nueve de ellas (Sabag et al., 2010).

En Chile, uno de los extractos más comercializados con supuestas aplicaciones en la terapéutica de diversas patologías, es el *P. major* ya que posee propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, astringentes y antihemorrágicas; también como cicatrizante de heridas, tanto internas como

externas. Indicándosele inclusive propiedades antitumorogénicas. Por lo que tiene un potencial de comercialización enorme y un impacto cultural tradicional (Albuquerque y Hurrell, 2010; Hernández et al., 2010; Hurrell y Albuquerque, 2012; Pensantes-Sangay et al., 2020).

El *P.major* es una herbácea perenne y anual, de tallos subterráneos no ramificados, perteneciente a la división Magnoliópsida, clase Magnoliópsida, orden Plantaginales y familia Plantaginaceae. Posee hojas arrosetadas, pecíolo largo con escapos florales de 0,10 – 0,40 m de alto. Crece en campos de cultivo húmedos, terrenos arcillosos-arenosos, riveras de acequias y riachuelos, ubicadas entre los 40–1.500 msnm. Popularmente, es conocida como “llantén mayor”, “llantén común” o “llantén grande”. Por ser una planta de fácil localización, no se cultiva, se considera una maleza. Existen especies relacionadas a *P. major*, como lo son *Plantago lanceolata* y *Plantago psyllium* (INBio, 1997). En estudios de aislamiento de principio activo, se ha encontrado mucílago, pectina, flavonoides, taninos, un glucósido cromogénico iridoide llamado aucubina, catalpol, acteroside, plantamajoside, baicalein, allantoin, hispidulina, ácido ursólico y ácido oleanólico, ácido salicílico y sales minerales de potasio y cinc y la aucubigemina, un derivado de la aucubina, que es el compuesto activo de mayor relevancia. Se cree que es responsable de la actividad antibacteriana de la planta (Bye, 2003; Pensantes-Sangay, et. al., 2020). Además, se han

realizado interesantes estudios *in vivo* e *in vitro*, en regeneración y proliferación celular del extracto de *P. major* usando modelos murinos (Garro-Monge et al., 2021).

De acuerdo con diversos estudios, *P. major* tiene una gran importancia como agente bactericida, antibacteriano (Alvarado y Moromi, 2010; Soto-Paredes, 2016) y como inhibidor *in vitro* de la proliferación celular fungal (Calderón-Pongo, 2018).

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la aplicación del extracto comercial etanólico de Llantén (*Plantago major*), sobre la proliferación de células en este caso sobre meristemáticas radiculares, usando como modelo de prueba a *Allium cepa*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para efectuar el estudio, se realizó el ensayo *Allium* (Fiskesjö, 1985). Fueron seleccionados bulbos de la variedad comercial común de *Allium cepa*, de 5 cm de diámetro aproximado, los cuales se colocaron en recipientes plásticos individuales, con condiciones controladas, bombeo permanente de aire y agua destilada. Estos recipientes, se dispusieron en una cámara de cultivo aislada de la luz y a una temperatura estable de 9°C a 10°C.

Para establecer la concentración del extracto de Llantén a utilizar en el grupo experimental, se debió preliminarmente conocer la concentración óptima. Para ello, se realizaron pruebas con las siguientes concentraciones: la concentración de uso comercial (30 mg/mL), soluciones diluidas a 15 mg/mL, a 7,5 mg/mL, a 1,5 mg/mL y a 0,75 mg/mL del extracto comercial. Definiendo finalmente la concentración óptima en 0,75 mg/mL del extracto comercial.

Una vez definida la concentración a utilizar, el diseño experimental consideró, el uso de 3 bulbos como Grupo Control (en recipientes con solo Agua destilada) y Grupos de Tratamiento

(con 3 bulbos por cada hora del tratamiento), en recipientes con solución 0,75 mg/mL extracto de *P. major*.

Después de 24 horas, se retiró los bulbos de sus recipientes y procedió a cortar entre 4 y 5 raíces de dos cm de longitud de cada cebolla, fijándolas con solución de Metanol-Ácido Acético (3:1). Se realizó hipotonía de las raíces en agua destilada por 20 minutos y luego tinción con Orceína-Acetoclorhídrica, se flameó hasta la emisión de vapores, evitando la ebullición. Se dejó enfriar y se repitió entre dos y tres veces durante 15 minutos. Posteriormente se realizó cortes finos del ápice de la raíz de la cebolla, se hace el “aplastado” del tejido y se sellan los bordes del cubreobjeto con barniz de uñas transparente para evitar la deshidratación celular y finalmente hacer el análisis al microscopio (Fiskesjö, 1985; Fiskesjö y Dutka, 1996).

Utilizando un microscopio óptico con 400X de aumento, se determinó el índice mitótico, mediante la siguiente fórmula:

$$\%IM = \frac{\text{Células en división}}{\text{Número total de células analizadas}} \times 100$$

El índice mitótico (IM), determinado como el número de células en alguna etapa de división (profase, metafase, anafase, telofase) fue dividido por el número total de células analizadas, en base a un recuento de 1000 células por cada tratamiento y recolectados mediante una ficha.

La comparación de los tratamientos se realizó mediante estadísticos para comparación de medias, Chi-cuadrado y Análisis de Varianza (considerando la significancia estadística en $p < 0.05$ y un nivel de confianza del 95%) mediante los programas estadísticos Epidat 3.0 (Santiago-Pérez et al., 2010), y el software IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. ® (Armonk, NY: IBM Corp).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los bulbos tratados con las concentraciones crecientes, se observó diversos efectos sobre el desarrollo radicular que resultaron en altos niveles de toxicidad para el bulbo, como ausencia de crecimiento radicular y escaso número de células meristemáticas obtenidas. Finalmente, a partir de los valores de concentración probados, se determinó la concentración óptima para trabajar de 0,75 mg/mL del extracto comercial de Llantén. Las células meristemáticas obtenidas se observan en las imágenes siguientes (Figura 1).

De acuerdo con el protocolo establecido, los resultados indican que los meristemas radica-

res obtenidos mediante tratamientos con solución 0,75 mg/mL del extracto de Llantén, presentan alteraciones en el índice mitótico estadísticamente significativos ($P < 0,0001$) con los observados en el control negativo.

En el grupo Control Negativo, se obtuvo un índice mitótico promedio (IM) de $11,4 \pm 4,82$ células. En forma similar, se evidenció que en los grupos de tratamiento con la concentración de 0,75 g/mL en volumen del extracto etanólico de *P.major*, el índice mitótico promedio (IM) fue superior al del grupo control negativo ($16,4 \pm 3,91$ células).

Los índices mitóticos medios y desviaciones estándar, se presenta en la siguiente tabla (Tabla 1).

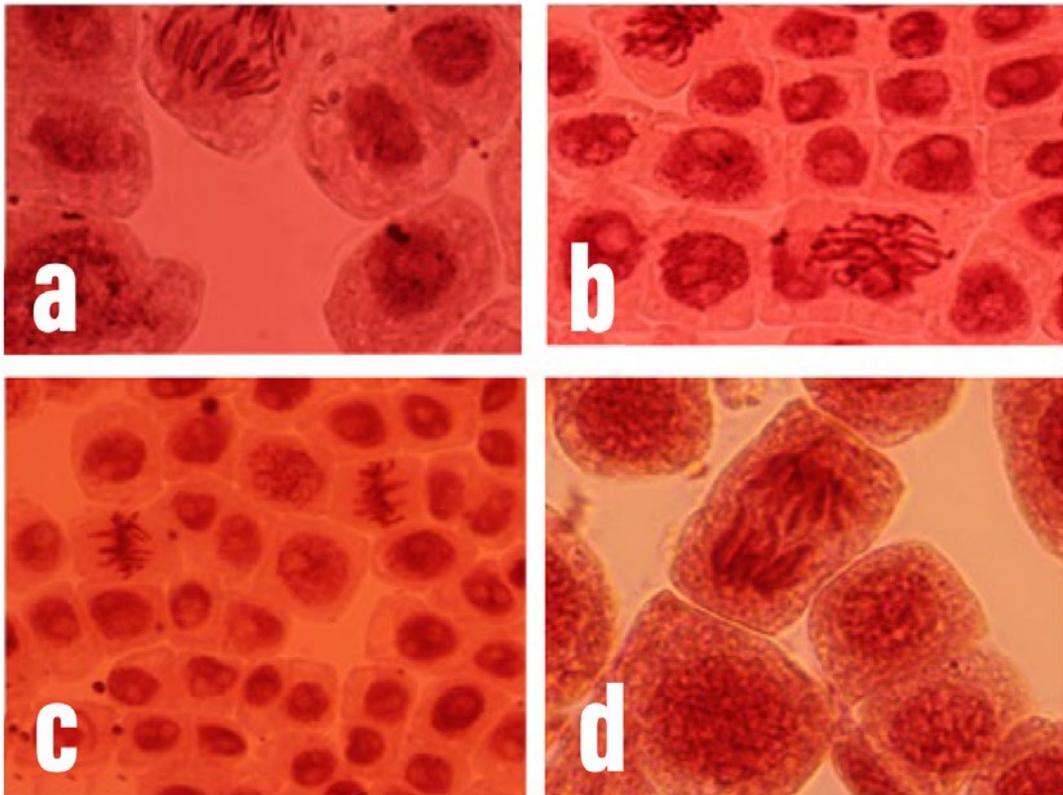


Fig. 1. Fotografías de células meristemas radiculares de *Allium cepa*, tratados con extracto de Llantén (*Plantago major*) a una concentración de 0,75 mg/mL, en el que se observan las diferentes etapas de la división celular. A) anafase, B) profase, C) metafase, D) anafase

TABLA 1. Índices mitóticos medios y desviaciones estándar

Tratamiento	N	Media	D.S.	Error Estándar
Control Negativo	3	11,40	4,827	2,158
Extracto de <i>P.major</i> (0,75 mg/mL)	15	16,40	3,912	1,749
Total	18	10,27	6,638	1,714

N: número de individuos muestreados

D.S.: desviación estándar

Al realizar análisis de varianzas, entre las medias obtenidas del grupo control negativo y los diferentes grupos de tratamiento con extracto de Llantén por 24, 48, 72, 96 y 120 h de exposición, se observan resultados estadísticamente significativos ($P < 0,0001$), tanto al comparar entre los grupos (inter-grupos) como al interior de cada uno de los grupos experimentales (intra-grupos). Los resultados se presentan en la Tabla 2.

El análisis Inter-grupos, compara las diferencias entre las medias de los grupos Control Negativo con los diferentes tiempos de exposición en el Grupo de Tratamiento. En cambio, el análisis Intra-grupos, permite comparar los resultados

obtenidos de los individuos de cada grupo de estudio. El resultado obtenido de estos análisis es altamente significativo ($P < 0,0001$).

Al analizar los resultados de las posibles variaciones en la cantidad de células meristemáticas de *Allium cepa*, que transitan por las diferentes etapas el ciclo celular en cada tratamiento; se observa que para cada etapa del ciclo los valores obtenidos fueron estadísticamente muy significativos ($p < 0,01$). Lo anterior se observa en la siguiente tabla de porcentajes de células contabilizadas por cada etapa del ciclo y de los tratamientos (Tabla 3).

TABLA 2. Análisis de varianzas entre medias obtenidas del control negativo y tratamiento, con extracto de Llantén, en diferentes tiempos de exposición

ANOVA	Suma Cuadrados	gl	X ²	F	Sig.
Inter-grupos: [Control Negativo y Grupos de Tratamiento (24, 48, 72, 96 y 120 h)]	458,533	2	229,267	17,369	0,0001
Intra-grupos	158,400	12	13,200		
Total	616,933	14			

gl: Grados de libertad

Sig.: $P < 0,0001$

TABLA 3. Comparación de la variación en los porcentajes de células meristemáticas radiculares de *A. cepa* contabilizadas para cada etapa del ciclo, entre control negativo y grupo experimental, según tiempo de exposición al extracto de *P. major*

Etapas del ciclo en los grupos experimentales	% 24 h	% 48 h	% 72 h	% 96 h	% 120 h	Chi-cuadrado	p-Valor
a. Profase:							
Control Negativo	27%	31%	37%	29%	49%	33,8861	0,00001
Con Extracto de <i>P. major</i> (0,75 mg/ml)	35%	19%	30%	38%	34%		
b. Metafase:							
Control Negativo	59%	36%	32%	53%	47%	31,6292	0,0001
Con Extracto de <i>P. major</i> (0,75 mg/mL)	12%	32%	21%	24%	16%		
c. Anafase:							
Control Negativo	63%	46%	22%	8%	31%	95,1299	0,00001
Con Extracto de <i>P. major</i> (0,75 mg/mL)	25%	23%	28%	50%	23%		
d. Telofase:							
Control Negativo	73%	25%	54%	29%	33%	98,2496	0,00001
Con Extracto de <i>P. major</i> (0,75 mg/mL)	18%	38%	33%	57%	56%		

Se observa que, en varias etapas del ciclo, al aumentar el tiempo de exposición al extracto, el porcentaje de células meristemáticas que se encuentran transitando por dicha etapa, le ocurren alteraciones que resultan en una disminución. Estos resultados obtenidos, son estadísticamente muy significativos ($P < 0,0001$).

Los resultados obtenidos indican que la relación entre el grupo control negativo y los grupos con tratamientos, presentan diferencias altamente significativas estadísticamente ($P < 0,001$), demostrando que el efecto causado por el extracto etanólico de *Plantago major* sobre la proliferación celular de *A. cepa* tiene un impacto negativo. Lo que también se evidencia al comparar el porcentaje de células que transitan en los diferentes estadios del ciclo celular.

De acuerdo con lo observado, el extracto de Llantén (*Plantago major*), aplicado a una concentración del 0,75 mg/mL tiene un efecto citotóxico sobre la proliferación celular, si se lo compara con los valores obtenidos en el grupo control negativo. Para la concentración de uso comercial (30 mg/mL), las soluciones diluidas a 15 mg/mL, a 7,5 mg/mL y 1,5 mg/mL del extracto alcohólico

de *P. major*; el efecto obtenido fue la ausencia total de crecimiento radicular. Se concluye que las concentraciones utilizadas, tuvieron un efecto tóxico y citotóxico para las células meristemáticas, afectando drásticamente la proliferación celular.

Los resultados encontrados, son coincidentes a los obtenidos en otros artículos (Gutiérrez, 2014), ya que de acuerdo con los resultados se demuestra la toxicidad del extracto etanólico 30 mg/mL de *P. major* en meristemas radiculares de *A. cepa*, siendo entre las 24 y 48 horas, el mayor nivel de toxicidad presentando índices mitóticos más reducidos que el control negativo.

Entre las fases de división mitótica, la metafase y anafase fueron las que presentaron mayor reducción, siendo aún menores que el control negativo.

La explicación frente a estos resultados se podría atribuir a los efectos de ciertos agentes fitoquímicos que contiene *P. major*; los cuales han sido reportados en diversas investigaciones y con variados modelos biológicos en los que ha detectado la presencia de alcaloides moderada y abundante presencia de taninos, compuestos fenólicos y especialmente abundante presencia de flavonoides (Fiestas, I. y Huanca, F, 2018). Es, por lo tanto, que se vuelve interesante el analizar en estudios futuros la influencia citotóxica de alguno de estos fitoquímicos. Post y Varma (1992), Ryu (1994) y Le Bai (1998) ya demostraron la importancia de la acción citotóxica de alguno de estos agentes presentes en *P. major*.

Entre los compuestos que la fitoquímica ha encontrado en extractos de *P. major*; son diversos, entre los que se encuentran flavonoides (Yuting, et al., 1990; Kawashty, et al., 1994; Sanz, et al., 1994; Nishibe, et al., 1995), alcaloides (Schneider, 2009), terpenoides (Pailer y Haschke-Hofmeister, 1969; Hiltibrán, et al., 1953; Ringbom, et al., 1998). Por otra parte, Adom et al. (2017), identifica diversos agentes fitoquímicos de importancia por su efecto citotóxico y anticancerígeno.

Dentro de las sustancia extraídas desde extractos de *P. major*; se ha encontrado el flavonoide baicaleina, la que se ha visto tiene una acción inhibitoria en el crecimiento de líneas celulares del hepatoma humano (Motoo y Sawabu, 1994). La baicaleina puede inducir muerte de células de carcinoma, y ha mostrado un fuerte efecto anti-proliferativo en células hepáticas de rata. Otras investigaciones, que han usado la baicaleina en conjunto con otras sustancias para el tratamiento de células tumorales de vejiga, han mostrado un potente efecto inductor de la apoptosis (hasta 30 % mayor que en drogas como la catequina, genisteína, quercetina y rutina) (Jiménez, 2012). Se demostró que los extractos de *P. major* inhibían el crecimiento celular y tenían efecto citotóxico de líneas celulares de adenocarcinoma de mama (Ozaslam et al., 2007). Las antocianinas, pertene-

cientes al grupo de los flavonoides, son también otros compuestos presentes en *P. major*; y han demostrado ser un potente antioxidante y un capturador excepcionalmente potente de radicales libres de oxígeno, los cuales tienen un rol crítico en la patogénesis de la enfermedad hepática (Bell y Gochenaur, 2006).

De acuerdo a los antecedentes aportados por este trabajo, se puede afirmar que el extracto alcohólico comercial de *P. major*; en una concentración de 0,75 mg/mL puede tener un efecto negativo sobre el crecimiento meristemático radicular en *A. cepa*. Estos resultados serían interesantes para evaluar mecanismos más precisos sobre el posible efecto protector que pudiera ejercer *P. major* sobre otros agentes químicos con efectos citotóxicos. Galves et al. (2004), han demostrado también el efecto citotóxico del extracto metanólico de *Plantago major* a concentraciones de 14,5% y 18,1 % (p/p), en células tumorogénicas del disco radicular de *Solanum tuberosum* L. debido a la presencia de flavonoides, cumarinas, triterpenos e iridoides de *Plantago*.

Estos estudios permitirán usar, el mismo modelo de investigación, para comprobar los efectos medicinales, positivos o negativos de esta planta. Por consiguiente, es necesario considerar nuevos estudios de esta planta medicinal en la población expuesta. En base a estudios citogenéticos, es posible obtener respuestas en el ámbito de la salud pública para regular el consumo masivo e indiscriminado de las plantas medicinales.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados experimentales, se concluye que: según las condiciones experimentales diseñadas, el crecimiento de los meristemas radiculares de *A. cepa*, se ven afectados de forma negativa (efecto citotóxico), al encontrarse expuestos al extracto etanólico de *P. major* a una concentración de 0,75 mg/mL.

En esta investigación, se encontró también

que el tiempo de exposición es una variable importante, ya que la proliferación celular se reduce progresivamente, alcanzando su valor menor entre las 24 y 48h.

Estos resultados entregan, información relevante para futuras investigaciones del efecto provocado por el *P.major*, en el meristema radicular de la especie *A.cepa*, por ejemplo, en evaluaciones de potenciales efectos genotóxicos o mutagénicos de algún compuesto químico determinado, tanto en bioensayos de células vegetales o animales.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración del Dr. Enrique Zamorano y al Sr. Gerardo Quezada, del Laboratorio de Genética Toxicológica, Facultad de Ciencias, Universidad del Bío-Bío, por el apoyo brindado para la realización de las actividades experimentales y a la Dirección de Investigación de la Universidad Adventista de Chile, por el apoyo financiero del Proyecto de Investigación N77_01_2017.

CONFLICTO DE INTERÉS

El autor declara que no mantiene ningún vínculo contractual ni económico con Laboratorios Knop© propietarios del producto Extracto Etanólico de Llantén.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adom M.B., Taher M, Mutalabisin M.F., Amri M.S., Abdul Kudos M.B., Wan Sulaiman M.W.A., Sengupta P & Susanti, D. (2017). Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major*. *Biomed Pharmacother. Dec*, 96,348-360.

Albuquerque, U.P. y Hurrell, J.A. (2010). *Ethnobotany: one concept and many interpretations*. In Albuquerque UP, Hanazaki N:

Recent developments and case studies in Ethnobotany. UPEEA, Recife, Brasil.

- Alvarado-Villanueva, V. y Moromi Nakata, H. (2010). Plantas medicinales: efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major L*, *Erythroxyllum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. *Odontol Sanmarquina*, 13(2) ,21-5.
- Alfredo, P.P., Anaruma, C.A., Pião, A.C., João, S.M. y Casarotto, R.A. (2009). Effects of phonophoresis with *Arnica montana* onto acute inflammatory process in rat skeletal muscles: An experimental study. *Ultrasonics*,49(4-5), 466-471.
- Bell D.R., Gochenaur, K. (2006). Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *J Appl Physiol*, 100(4),1164-70.
- Bye, R. (2003). *Plantas popularmente utilizadas para afecciones del aparato digestivo, diarrea y parásitos en México*. Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America.
- Cabrera A., Mach, N. (2012). Flavonoides como agentes quimiopreventivos y terapéuticos contra el cáncer de pulmón. *Rev Esp. Nutr. Hum. Diet*, 17(2), 91–92.
- Calderón Pongo, B. (2018). Evaluación del extracto etanólico del *Plantago major* y nistatina para inhibir el crecimiento in vitro de *Candida albicans*. Juliaca.
- Fiestas, I. y Huanca, F. (2018). *Extracto hidroalcohólico de Plantago major L. y su efecto antibacteriano sobre cultivos de Streptococcus pyogenes estudios in vitro*. [Tesis. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Lima. Perú]
- Fiskesjö, G. (1985). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102, 99-112.
- Fiskesjö, G. & Dutka, B. (1996). Toxicological monitoring of drinking waters in developing

- countries. Proceedings of WaterTox [Workshop]. Ottawa: Burlington National Water Research Institute.
- Garro Monje, G., Jimenes, Q. K., Castro, P. S. y Montero, C. V. (2021). *Optimización del protocolo de establecimiento de cultivos celulares de Plantago major (llantén) para la comprobación de la actividad cicatrizante de un producto farmacéutico y determinación efecto biológico contra la infección de H. pylori en modelos in vitro*. [Proyecto de Investigación (Código: 1510044). Instituto Tecnológico de Costa Rica, Vicerrectoría de Investigación y Extensión, Dirección de Investigación].
- Gálvez, M., López-Lázaro, M., Navarro, E., Mederos, S., Martín-Cordero, C. y Ayuso, M.J. (2004). Citotoxicidad de *Plantago major* L. *Canarias Médica y Quirúrgica I*, 2(4).
- Golberg, D. (2015). *La importancia actual de las hierbas medicinales*. *Agroconsultora Plus*. <http://www.agroconsultoraplus.com/cursos-fitoterapia>.
- Gutiérrez, C. (2014). *Cuantificación de alteraciones cromosómicas en meristemas radiculares de Allium cepa expuestos a extractos etanólico y acuoso de Plantago major*. [Tesis de Grado. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Ciencias Biológicas].
- Hernández M.P., Civitella S.M., y Rosato, V.G. (2010). Uso medicinal popular de plantas y líquenes de la Isla Paulino, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Bol Latinoam Caribe Plant. Med. Aromat.* 9, 258–268.
- Hiltibrán, R. C., Wadkins, C. L., & Nicholas, H. J. (1953). The distribution of triterpenes in rugel's plantain1. *Journal of the American Chemical Society*, 75(20), 5125-5126.
- Hurrell, J.A. y Albuquerque, U.P. (2012). *Is ethnobotany an ecological science? Steps towards a complex*. *Ethnobot. Ethnobiol. Conserv.*
- IBM Corp. Released (2015). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- INBio. (1997). Jerarquía taxonómica. <http://www.inbio.ac.cr/bims/k03/p13/c045/o0139/f01349/g008585/s027112.htm>.
- Jiménez, J. (2012). *Péptidos bioactivos de la leche*. Ponencia presentada en el 1er Congreso Nacional Producción, Calidad, Transformación, Comercialización y Nutrición de Leche y Derivados. Acapulco-México.
- Kaewpiboon, C., Lirdprapamongkol, K., Srisomsap, C., Winayanuwattikun, P., Yongvanich, T., Puwaprisrisan, P., Svasti, J. & Assavalapsakul, W. (2012). Studies of the *in vitro* cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. *BMC Complement and Alternat Med* 12: 217.
- Kawashty, S. A., Abdalla, M. F., & Saleh, N. A. M. (1994). Flavonoids of *Plantago* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(7), 729-733.
- Le Bail, C., Varnat, F., Nicolas, J. C. & Habrioux, G. (1998). Estrogenic and antiproliferative activities on MC F-7 human breast cancer cells by flavonoids. *Cancer Lett.* 130, 209-216.
- Luz, A.C., Pretti, I.R., Dutra, J.C.V., Batitucci, M.C.P. (2012). Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste *in vivo*. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, 14(4), 635-642.
- Motoo, Y. & Sawabu, N. (1994). Antitumor effects of saikosaponins, baicalin and baicaleina on human hepatoma cell lines. *Cancer Lettera*, 86, 91-95.
- Nishibe, S., Tamayama, Y., Sasahara, M., & Andary, C. (1995). A phenylethanoid glycoside from *Plantago asiatica*. *Phytochemistry*, 38(3), 741-743.
- Obregón, L. (2001). *Fitoterapia: perspectivas de la fitoterapia para el nuevo milenio*. [Ponencia]. Primer Congreso Internacional de

● ● ● **Sandoval-Velazco, J.A Inhibición del crecimiento radicular en *Allium*, por extracto de *Plantago major***

- Plantas Medicinales y Aromáticas. Cali, Colombia.
- Ozaslam, M., Karagoz, D., Kilic, H., Sari, I. & Karagoz, A. (2007). *In vivo* antitumoral effect of *Plantago major* L. extract on Balb/C Mouse with Erlich Tumor". *The American Journal of Chinese Medicine*, 35(5), 841-851
- Pailer M., Haschke-Hofmeister E. (1969). Contents from *Plantago major*. *Planta Med*, 17 (2), 139-145.
- Post, F.M., Varma, R.S. (1992). Growth inhibitory effects of bioflavonoids and related compounds on human leukemic CEM-C1 and CEM-C7 cells. *Cancer Lett.*, 67, 207-213.
- Pensantes-Sangay, S. J., Calla-Poma, R. D., Requena-Mendizabal, M. F., Alvino-Vales, M. I., & Millones-Gómez, P. A. (2020). *Chemical composition and antibacterial effect of Plantago major extract on periodontal pathogens*. *Pesquisa Brasileira Em Odontopediatria E Clínica Integrada*, 20, e0012.
- Ringbom, T., Segura, L., Noreen, Y., Perera, P., & Bohlin, L. (1998). Ursolic acid from *Plantago major*; a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 catalyzed prostaglandin biosynthesis. *Journal of natural products*, 61(10), 1212-1215.
- Ryu, S.Y., Choi, S.U., Lee, C.A., Lee, S.H., Ahn, J.W., & Zee, O. P. (1994). Antitumor activity of some phenolic components in plants. *Arch. Pharmacol. Res.*, 17, 42-44.
- Sabag, V.; Pinto, J.; Zabalaga, S. y Camacho, M. (2010). Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (*Plantago major*). *BIO-FARBO*, 18 (2), 44-52.
- Santiago Pérez, M. I., Hervada Vidal, X., Naveira Barbeito, G., Silva, L. C., Fariñas, H., Vázquez, E., ... y Mújica, O. J. (2010). El programa epidat: usos y perspectivas. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 27, 80-82
- Sanz, M. J., Ferrandiz, M. L., Cejudo, M., Terencio, M. C., Gil, B., Bustos, G., ... & Alcaraz, M. J. (1994). Influence of a series of natural flavonoids on free radical generating systems and oxidative stress. *Xenobiotica*, 24(7), 689-699.
- Schneider G. (2009). *Arzneidrogen, ein kompendium für pharmazeuten, biologen und chemiker*. Wissenschaftsverlag, Mannheim, Germany.
- Yuting, C., Rongliang, Z., Zhongjian, J., & Yong, J. (1990). Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(1), 19-21.

Directrices para autores/as

La guía para los autores es una normativa que se ajusta periódicamente de acuerdo a los requerimientos de los estándares nacionales e internacionales. Los aspectos no definidos, serán resueltos por el Comité editorial de la revista.

Steviana publica investigaciones originales (artículos), revisiones (reviews), notas cortas, libros y material suplementario, en español o inglés. Es responsabilidad total de los autores el contenido científico, gramatical y ortográfico de un artículo. Para someter sus artículos los autores deberán considerar las pautas mencionadas en “Indicaciones para los autores”.

Características de cada tipo de publicación

Un artículo original/inédito, es un tipo de artículo científico que describe de manera completa los datos de una investigación y debe contar con las secciones: **Título, Resumen, Palabras clave, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Aportes de los Investigadores, Referencias Bibliográficas**. Se recomienda que los artículos originales no sobrepasen las 30 páginas, en el caso que supere, el autor deberá comunicarse con el editor.

Una nota breve-corta, es un tipo de artículo que contiene información resultados preliminares de un estudio, informes breves de resultados de una investigación original. **Este tipo de artículo sigue las normas de presentación de un artículo original**. La extensión máxima es de 5 páginas.

Un artículo de revisión (review), es un tipo de artículo que recopila o proporciona información amplia y relevante de un tema específico, sus perspectivas actuales y futuras. **Este tipo de artículo seguirá las normas de presentación de un artículo original, sustituyendo sin embargo metodología, resultados y discusión, por el Desarrollo comentado de la revisión, sin alterar las demás partes**. La extensión máxima es de 10 páginas.

Un suplemento, contiene información relevante para el avance del conocimiento científico. Se publicarán memorias de congresos, jornadas, libros y otros materiales científicos en el área de Recursos Vegetales y afines, como un número suplementario.

Un artículo de divulgación, es un tipo de artículo que utiliza un lenguaje sencillo para el lector no especializado, con un contenido que es producto de proyectos de investigación, orientado a un público más general, con la finalidad de comunicar resultados y posibilitando el acceso de todos los miembros de la sociedad al conocimiento científico. Este tipo de artículo debe contar con las siguientes secciones: **Título, Introducción, Desarrollo, Conclusiones, Referencia bibliográfica**. La extensión máxima es de 3 páginas.

Los artículos son revisados por pares e incluyen fechas de recepción y aceptación.

Indicaciones para la preparación del artículo

En el caso de artículos sometidos en lengua inglesa, los autores deben asegurarse de que el contenido haya pasado por una revisión lingüística adecuada antes de su envío. Los artículos podrán ser rechazados antes de la revisión por pares en el caso que no cumplan con este requisito.

Título principal

Deberá estar escrito en Times New Roman 14, negrita y extensión máxima de 20 palabras. La letra inicial en mayúscula, el resto en minúsculas. El nombre de géneros y especies en cursiva, sin embargo, las abreviaturas como sp. var., comb., s.l., f., subsp., ex, permanecerán con estilo normal. Ejemplo: *Stevia*, *Stevia sp.*, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

Autores

Los nombres de los autores se escriben con letra Times New Roman, tamaño 10, por debajo del título, mencionando apellido(s) e inicial del nombre. Indicar en un siguiente párrafo la filiación sin abreviaturas, Ciudad y País. Es obligatorio colocar un superíndice al final de la inicial del nombre del autor y al inicio de la filiación. En un siguiente párrafo se menciona el autor por correspondencia colocando un apartado denominado E-mail. Ejemplo:

Diversidad florística en pastizales de la Reserva para Parque Nacional San Rafael, Paraguay

Benítez, B.^{1*}; Vera, M.¹; Vogt, C.¹; Pereira, C.¹; Rivarola, A.¹

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

*E-mail: bbenbert@facen.una.py

Los datos del autor y coautores deberán cargarse en el OJS siguiendo la guía para someter artículos al OJS

Se deberá mencionar el identificador digital del ORCID de al menos el autor principal, para una mejor divulgación de su trabajo.

Se aceptará un solo autor por correspondencia que podrá o no ser el autor principal.

Resumen

Deberá estar en español en letra Arial 9, con extensión máxima de 250 palabras, con el título principal y sin referencias. El resumen deberá incluir información sobre el contenido del artículo siguiendo el orden: Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión, Conclusiones; sin mencionar estos títulos.

El mismo contenido del resumen en español deberá ser presentado en inglés y con el nombre de Abstract.

Palabras clave

Deberán presentarse en orden alfabético, en minúscula (a menos que sea nombre propio), separadas por coma y sin punto final, con un mínimo de tres (3) y un máximo de cinco (5). No deberá incluir palabras que formen parte del título.

Contenido

Todos los textos deberán conservar el siguiente orden: Título, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión, Conclusiones, Agradecimientos (en caso aplicable), Referencias Bibliográficas. Anexos. Tipo de letra Times New Roman 11, normal, espacio simple. En casos aplicables, el resultado y la discusión pueden ir juntos.

Dentro del texto general serán admitidos un título principal y un título secundario, con tipo de fuente "normal" y sin punto final. El título principal escrito en mayúsculas y negritas (**INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSIÓN, CONCLUSIONES, AGRADECIMIENTOS, APORTES DE LOS INVESTIGADORES, REFERENCIAS BIBLIO-**

● ● ●

GRÁFICAS), el título secundario en negritas, con la letra inicial en mayúscula, el resto en minúsculas. Se permitirá el uso de cursiva, negritas, o el subrayado en palabras que quieran resaltarse dentro del artículo, según criterios del autor.

Cuando el caso lo requiera, las abreviaciones deben ser definidas en el texto o leyendas en su primera utilización y deben ser usadas exclusivamente desde ese momento. Para el caso de los nombres científicos deberá escribirse el nombre completo en cursiva seguido de los autores en su primera utilización. Ejemplo: *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

Tratamientos taxonómicos

Para las citas bibliográficas de los taxones y sinonimias se realizará según la base de datos www.ipni.org, www.tropicos.org

El nombre de géneros y especies en cursiva, sin embargo, las abreviaturas como sp. var., comb., s.l., f., subsp., ex, permanecerán con estilo normal. Ejemplo: *Stevia*, *Stevia sp.*, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

Para el caso de descripciones de especímenes, las medidas de largo x ancho se realizará de la siguiente manera: 10-15 x 0,7-1 cm o 10-15 x 0,7-1 mm (se debe mantener la unidad en ambas medidas, sin punto final).

Los códigos de los herbarios se utilizan de acuerdo con [Index Herbariorum](#)

Las ilustraciones, gráficos, fotografías y mapas, serán consideradas “Figuras”. Deberán ajustarse al tamaño de las columnas de la revista (19,5cm x 6,25cm) o al margen de la página (24cm x 18cm). Las mismas deberán formar parte del cuerpo del texto general y también deberán ser enviadas por separado, en formato TIFF o JPG, para su publicación definitiva, con resolución mínima de 300dpi para ilustraciones, gráficos y fotografías, y de 600 dpi para mapas. Los **mapas** deberán presentarse dentro de un recuadro, el norte deberá estar orientado en el margen superior y estar de acuerdo estrictamente con lo que menciona el texto, se incluirán como mínimo dos marcas de longitud y dos de latitud y la escala deberá estar en kilómetros. Deberá remitirse en blanco y negro, pudiendo presentar colores en los casos que sean estrictamente necesarios. Todas las figuras deben estar referenciadas en el texto del artículo. **La leyenda de la figura** se escribe con letra Times New Roman, negritas, tamaño 10 por debajo y sin punto final.

Fotografías, gráficos o dibujos no deberán llevar bordes, ni estar señalizadas. Se permitirán en las figuras solo las señalizaciones de estructuras y/o detalles, con sus unidades de medida, con letra minúscula, en tipo de letra Times New Roman, tamaño 9.

Las tablas deberán ajustarse al tamaño de las columnas de la revista (19,5cm x 6,25cm) o al margen de la página (24cm x 18cm). El título debe ir en la parte superior y la leyenda en la parte inferior, solo con líneas divisorias horizontales en el encabezado y al final de la tabla. Deberán ser enviadas por separado en un archivo Excel en su formato original. La fuente debe ser Times New Roman 10. Serán rechazadas las tablas escaneadas o aquellas que no cumplan con estos requisitos.

La leyenda de las tablas serán escritas con letra Times New Roman, negritas, tamaño 10 por debajo y sin punto final.

Las fórmulas y estructuras químicas deberán ser realizadas en el programa ChemDraw, para luego importarlas al artículo. Así mismo deberán ser enviadas por separado en formato tiff o jpg.

Las ecuaciones matemáticas, las ecuaciones y las expresiones matemáticas deberán ser incluidas en el texto principal del artículo. Las ecuaciones que son citadas en el texto se identifican con números

entre paréntesis, tales como (1) y son citadas en el artículo como “ecuación (1)”.

Si el artículo está en formato .docx y contiene ecuaciones, las mismas deben ser editables.

Los valores numéricos deberán llevar “comas” y no puntos en los artículos en español. Serán estrictamente empleadas las unidades de medidas del sistema internacional, enmarcadas de acuerdo a lo recomendado en la siguiente tabla.

Gramos (g)	Kilómetros (km)	Hectárea (Ha)
Kilogramos (kg)	Metros (m)	Centímetros cúbicos (cm ³)
Miligramos (mg)	Centímetros (cm)	Milímetros cúbicos (mm ³)
Microgramos (μg)	Milímetros (mm)	Micrómetros cúbicos (μm ³)
Litros (L)	Micrómetros (μm)	Decímetros cúbicos (dm ³)
Mililitros (mL)	Metros cuadrados (m ²)	Hora (h)
Microlitros (μL)	Centímetros cuadrados (cm ²)	Minutos (min)
Decilitros (dL)	Milímetros cuadrados (mm ²)	Segundos (s)
Moles (mol)	Micrómetros cuadrados (μm ²)	Día (d)
Luxes (lx)	Normalidad (N)	Grados Fahrenheit (°F)
Lumen (lm)	Molalidad (m)	Kelvin (K)
Osmol (Osm)	Toneladas (t, T o Tn)	Atmosfera (atm)
Molaridad (M)	Grados Celcius (°C)	Pascal (Pa)
Newton (N)	Hertz (Hz)	Joule (J)
Kilocalorías (kcal)	Watt (W)	Volt (V)
Candela (cd)	Amperios (A)	Ohm (Ω)

Se recomienda el uso unificado en todo el documento de una sola unidad de medida, sin punto final. Para las unidades combinadas que implican relaciones, se recomienda el uso exponencial y no el uso de las barras (/). Ej: kcal.mol⁻¹, km.h⁻¹, m.s⁻¹

Todas las figuras, tablas y ecuaciones deberán estar enumeradas en orden secuencial dentro del artículo.

Nomenclatura y abreviaciones químicas y biológicas

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

Material de referencia

La mención del material de estudio en el caso de especies vegetales, depositadas en herbarios reconocidos, se realizará en el siguiente orden: País, Departamento, Localidad, Coordenadas geográficas, Fecha de colecta, colector - número, Sigla del herbario en el cual está depositado.

Agradecimientos

Deberán escribirse en un apartado antes de las Referencias bibliográficas.

Aportes de los autores

Los autores deberán declarar sus contribuciones en el artículo y si existe o no conflicto de intereses.

Citas bibliográficas

» Para citas intratextuales:

- Un solo autor: Apellido del primer autor y año de publicación. Ejemplo: Vera, 2021
- Dos autores: Apellido de los dos autores y año de publicación. Ejemplo: Acosta y Domínguez, 2020
- Tres o más autores: Apellido del primer autor, seguido de *et al.*, y año de publicación. Ejemplo: Benítez *et al.*, 2019

Para las citas intratextuales se mantendrá el uso de “y”, sin importar el idioma del material consultado.

» Para citas directas, el año de publicación estará dentro de un paréntesis. Ejemplo: Según Pereira (2020), con más de un autor separados por punto y coma. Ejemplo: Según Pereira (2020); Ramos (2021). Para citas indirectas: (Pereira, 2020), con más de un autor: Pereira *et al.*, 2020; Ramos, 2021.

Referencias bibliográficas:

- » Serán considerados para revisión solo aquellos artículos que cumplan estrictamente las normativas vigentes referentes a las citas dentro del contenido y la coincidencia con lo mencionado en referencias bibliográficas.
- » Las referencias se realizarán siguiendo las normas APA última edición <https://normas-apa.org/wp-content/uploads/Guia-Normas-APA-7ma-edicion.pdf>
- » Se incluirán las citas intratextuales mencionadas en el artículo, en orden alfabético, utilizando sangría francesa.
- » Tanto autores como título del material consultado se escribirán en estilo de fuente normal, la letra inicial en mayúsculas, el resto en minúsculas.
- » Cuando se presenten varias citas de un mismo autor, se deberá mencionar siguiendo un orden cronológico (publicación más antigua a la más actual).
- » Cuando un mismo autor presente publicaciones siendo él, el único autor y publicaciones con otros autores; se deberá escribir la referencia bibliográfica correspondiente al único autor, seguido de las referencias bibliográficas con coautores.
- » El uso de “&” queda destinado solo para este apartado y si el material consultado se encuentra en inglés, si el material consultado se encuentra en español se mantendrá el uso de “y”.

Indicaciones para el envío del artículo

Antes de someter su artículo, el autor debe asegurarse de contar con:

Carta compromiso

El autor principal debe proveer una **carta de compromiso** siguiendo la plantilla de la revista *Steviana*, adjuntando los documentos respaldatorios.

La carta compromiso muestra el común acuerdo de todos los autores implicados en el artículo sometido a revisión y posterior publicación, sirviendo así de documento oficial por parte de la revista *Steviana*.

Es obligación del autor de correspondencia, la comunicación constante con los demás autores y coautores del artículo sometido a revisión, desde el momento del envío, las correcciones realizadas por los revisores, la versión final, hasta la prueba de página para la publicación final.

Envío de figuras y tablas por separado

Las figuras y tablas, deberán ser enviadas por separado en los formatos indicados anteriormente, al mismo tiempo que somete el artículo o una vez que el artículo sea aceptado. No serán aceptados como oficiales los presentes en el documento Word. **Es total responsabilidad del autor cumplir con los formatos requeridos por la revista, desde el momento que se somete a revisión el artículo**

Sugerencia de revisores

Al momento de someter el artículo, los autores pueden sugerir el nombre de al menos 4 potenciales revisores (2 nacionales y 2 internacionales); estas sugerencias suelen ser de ayuda, aunque no siempre son seguidas. Así mismo, también pueden indicar por nombre y apellido, un número limitado de científicos que no deben revisar el artículo.

Lista de comprobación para la preparación de envíos:

- » El envío no ha sido publicado previamente ni se ha sometido a consideración por ninguna otra revista (o se ha proporcionado una explicación al respecto en los Comentarios al editor/a).
- » El archivo de envío está en formato OpenOffice, Microsoft Word, RTF.
- » Siempre que sea posible, se proporcionan direcciones URL para las referencias.
- » El texto sigue el formato y las indicaciones mencionadas en el contenido de la guía para autores.
- » Todas las figuras y tablas se encuentran colocadas en los lugares del texto apropiados.
- » El texto reúne las condiciones estilísticas y bibliográficas incluidas en las directrices para autores.
- » Carta compromiso que acompaña al artículo sometido y las declaraciones (si aplica).

Proceso editorial

El proceso editorial consta de cuatro pasos:

1. Recepción del artículo

El artículo debe ser enviado por el sistema en línea de la revista, en formato Word, el cual será recepcionado por el Comité editorial, quienes realizarán una revisión inicial. En “comentarios al editor”:

- El autor puede sugerir 2 nombres de potenciales evaluadores nacionales y 2 internacionales; estas sugerencias serán de ayuda, aunque no necesariamente seguidas.
- El autor debe enviar el título abreviado (Título corto) para el encabezado de las páginas de su artículo.

En este primer paso, se debe adjuntar por separado la carta compromiso, la cual debe contar con la información de contacto del autor corresponsal y la firma de conformidad de todos los autores. En la misma debe explicar brevemente los fundamentos por los cuales el trabajo es considerado como apropiado para *Steviana* y manifestar la completa responsabilidad de los autores en cuanto a su contenido, exonerando de toda responsabilidad a la Revista.

La carta compromiso común acuerdo de todos los autores implicados en el artículo sometido a revisión, sirviendo así de documento oficial para de la revista *Steviana*. **Es obligación del autor de correspondencia**, la comunicación constante con los demás autores del artículo sometido a revisión, desde el momento del envío, las correcciones realizadas por los revisores, la versión final, hasta la prueba de página para la publicación final.

En el caso que hubiere conflictos de intereses, los autores deben adjuntar a su carta compromiso,

una declaración sobre los mismos. Para el caso de colectas, los autores deberán declarar en su carta compromiso, que han cumplido con las exigencias ambientales o de salud para la realización de la investigación.

En la revisión inicial, el Comité Editorial podrá realizar sugerencias que crea convenientes sobre el artículo, para mejorar su presentación y garantizar la publicación, antes del envío a los evaluadores para su revisión. De igual manera, la revista *Steviana* se reserva el derecho de aceptar o rechazar los artículos sometidos para su publicación.

2. Evaluación del artículo

La Revista *Steviana* utiliza el sistema de evaluación por pares, empleando el sistema doble ciego, donde la identidad de los evaluadores no es revelada a los autores y viceversa.

El evaluador podrá realizar las sugerencias o correcciones directamente sobre el artículo sometido utilizando el control de cambios de word. El documento contará con una hoja de evaluación proveído por el comité editorial para las anotaciones que crea conveniente.

El periodo de evaluación tendrá un plazo de aproximadamente un mes, dependiendo de la complejidad del artículo. El autor será notificado del estado de su artículo. Luego de la evaluación, el comité editorial podrá tomar la decisión de aceptación (con o sin modificaciones) o rechazo del artículo.

3. Devolución del artículo a los autores

El artículo devuelto a los autores puede presentar observaciones o correcciones. El mismo va acompañado de una hoja de evaluación con los criterios tenidos en cuenta por la revista, una columna con observaciones de los evaluadores y una columna libre donde los autores deberán especificar si el ajuste fue o no realizado, especificando con “realizado” en el caso que se haya procedido al ajuste o escribiendo una justificación corta y concisa en el caso que el mismo no haya sido realizado. El documento también cuenta con comentarios finales de “Aceptado”, “Aceptado con modificaciones”, “Rechazado”.

Posibles resultados:

- Rechazado: el artículo es devuelto al autor.
- Aceptado: el artículo es aceptado sin modificaciones y pasa a edición.
- Aceptado con modificaciones: el autor deberá aceptar o rechazar las correcciones o sugerencias realizadas al artículo, explicando al final, en la misma hoja de evaluación las sugerencias no aceptadas y enviando la nueva versión del artículo con los cambios realizados con color resaltado en el texto.

Una vez que el autor haya recibido la evaluación, debe responder a cada uno de los ítems e incorporar las modificaciones en el artículo, en un plazo no mayor a dos semanas, de lo contrario su artículo será retirado del número a ser publicado.

4. Aceptación, prueba de página y publicación

Una vez aceptado el artículo para su publicación, no se aceptarán modificaciones sobre el mismo y se solicitará enviar a la revista, las fotografías y tablas en los formatos según se menciona en la guía para autores para la diagramación y edición.

El autor por correspondencia recibirá una prueba de página en PDF, que deberá ser revisada en conjunto con los demás autores y devueltas al editor en un plazo no superior a 7 días. Deberán indicar directamente en el documento las correcciones o en un documento Word, en este caso indicando la página y párrafo en donde deberá realizarse la corrección.

Con la finalidad de la difusión del artículo definitivo en las redes sociales de la revista (Facebook, Instagram, Twitter), el autor por correspondencia deberá facilitar una breve descripción del mismo en lenguaje sencillo de no más de 280 caracteres, acompañado de una imagen que deberá ser seleccionada de entre las que acompañan al artículo sometido. La información podrá ser enviada al correo: steviana@facen.una.py

Derecho de autor y política de privacidad



A partir del año 2021, el contenido de esta revista se encuentra bajo una [Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional \(CC BY 4.0\)](#), que permite compartir y adaptar la obra en tanto se sigan los términos de la licencia.

Los nombres y las direcciones de correo electrónico introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros o para su uso con otros fines.

Steviana, Vol. 14 (2) - 2022

CONTENIDO POR SECCIONES

Micoquímica

05-16

Explorando las propiedades de la funga neotropical: perfil químico, actividades antioxidantes y antimicrobianas de *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Rywarden
Mancuello, C.; Benítez, D.; Maubet, Y.; Cristaldo, E. ; Veloso, B.; Ferreira, F.; Campi, M.

Genética y Biología Molecular

17-26

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Plantago major* L. en el crecimiento meristemático radicular de *Allium cepa* L.
Sandoval-Velasco, J.A.

