

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

Virginia Fernandez<sup>1</sup>, Luciana Sales<sup>1</sup>, Jorge Alfonso<sup>1</sup>, Deidamia Franco<sup>1</sup>, Ana Gomez<sup>1</sup>, Claudia Pereira<sup>2</sup>, Danila López<sup>3</sup>, Francisco Cabañas<sup>3</sup>

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

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

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

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

---

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

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

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

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

---

## INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **MATERIALES Y METODOLOGÍA**

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

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

### *Caracterización morfológica*

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

### *Caracterización anatómica*

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

### *Evaluación Citotóxica*

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

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

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

#### *Grupo tratado*

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

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

#### *Grupo control*

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

#### *Grupo de prueba*

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

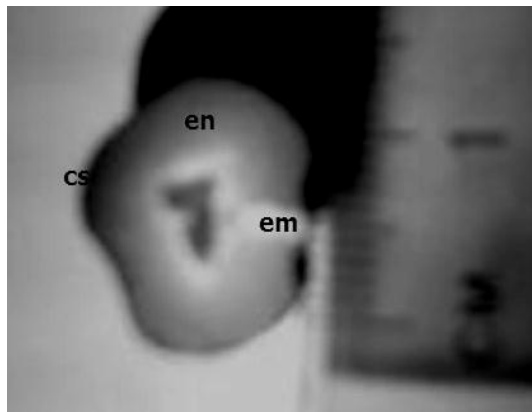
## RESULTADOS Y DISCUSION

#### *Caracterización morfológica*

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

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

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



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

### *Caracterización anatómica*

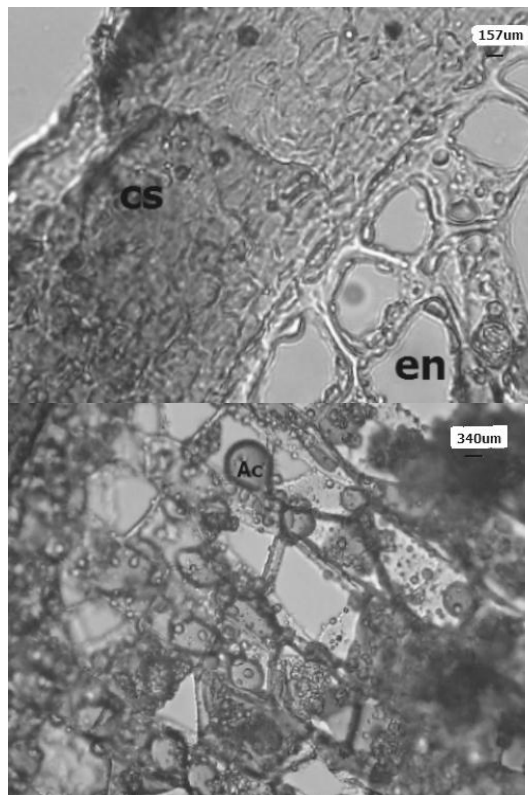
La cubierta seminal de  $\pm 1500$   $\mu\text{m}$  de grosor, está compuesta de 8 – 12 capas de células. Se detectó la presencia de grasas y aceites en el endospermo al observarse una coloración naranja-rojiza intensa (Douglas et al; 2005) No se ha detectado la presencia de almidones.

### *Evaluación Citotóxica*

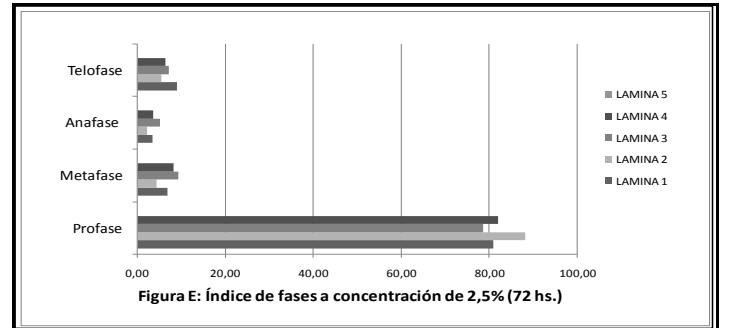
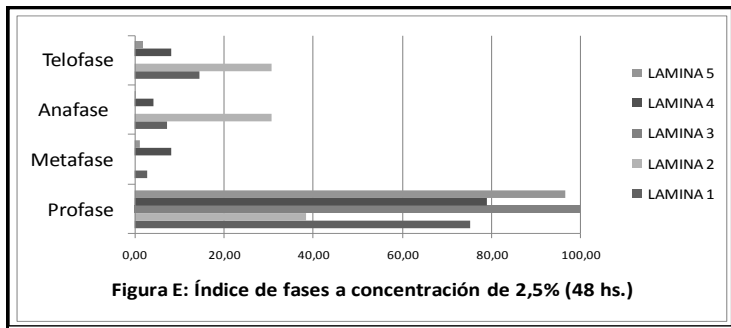
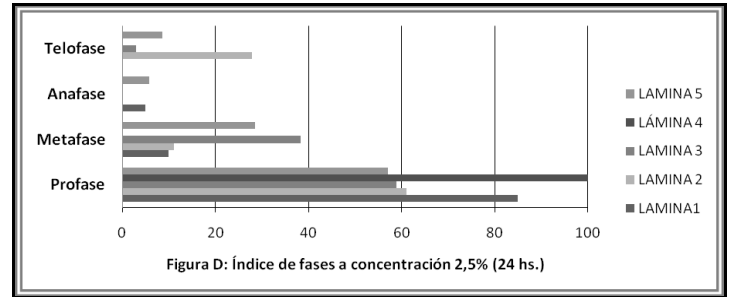
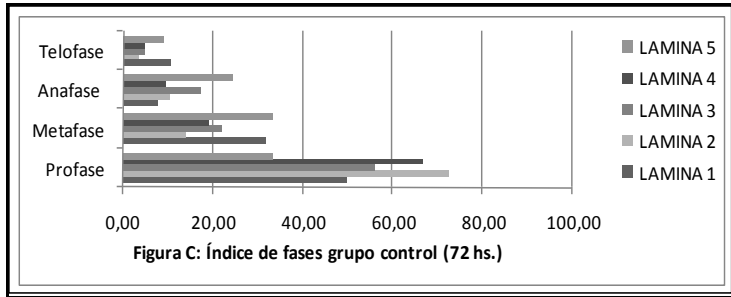
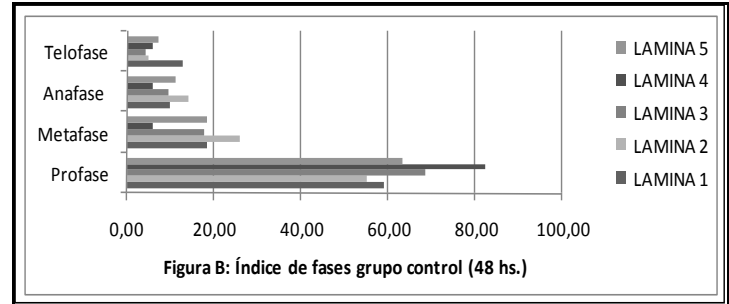
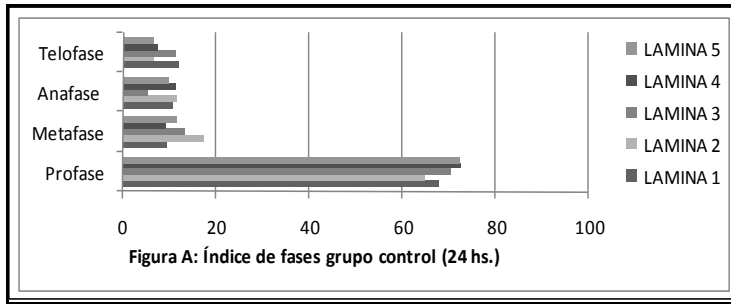
Las células expuestas a concentración de 2,5% a 24 y 48 horas (Tabla 3), demuestran disminución del índice mitótico y aparición de C-metafasas. El análisis de los datos muestran una marcada diferencia en cuanto a la cinética proliferativa, y los índices de fases han determinado disminución de las telofases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

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

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



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



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

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

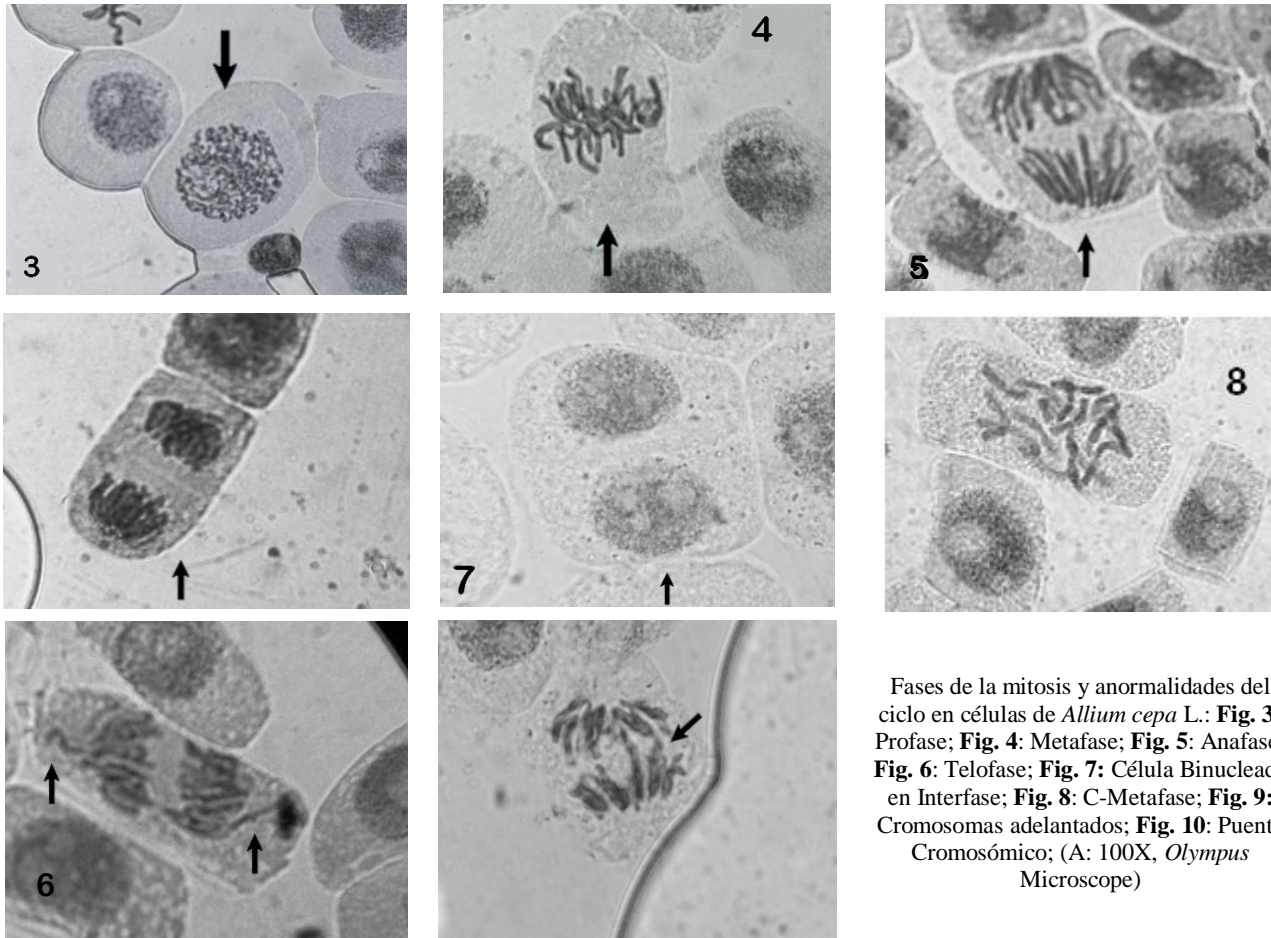
**Tabla 3:** Número, Índice de fases e Índice mitótico realizados en grupos tratados con extracto acuoso al 2,5%.

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



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

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



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

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

## CONCLUSIÓN

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

## AGRADECIMIENTOS

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

Al MSc. Danilo Fernandez Ríos.

A la estudiante Nidia Benítez Candia.

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

## BIBLIOGRAFIA

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

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