



Vegetación de origen como parámetro de caracterización microbiana de los propóleos

Origin vegetation as a parameter for characterization antimicrobial of propolis

Sosa-López Ángela Antonia¹, Cabrera Maria Graciela², Álvarez Mayra Yanet^{1,2}

Datos del Artículo

¹Química Orgánica y Biológica, Departamento de Física y Química. Subsecretaría de Bienestar Estudiantil. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Sgo. Cabral 2131 - Tel. 03794-427589 (int.122). Argentina

²Fitopatología, Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

cabrera@agr.unne.edu.ar; alvarezmayra991@gmail.com.

***Dirección de contacto:**

Ángela Antonia Sosa-López
Subsecretaría de Bienestar Estudiantil
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad Nacional del Nordeste
Sgo. Cabral 2131 - Tel. 03794-427589
(int.122)

E-mail: avaljejos-fca@agr.unne.edu.ar
angelasosalopez@yahoo.com.ar

Palabras clave:

Propóleos,
actividad antimicrobiana,
control de fitopatógenos.

J Selva Andina Biosph.
2016; 4(1):3-23.

Historial del artículo.

Recibido mayo, 2014.
Devuelto enero 2016
Aceptado abril, 2016.
Disponible en línea, mayo 2016

Editado por:
Selva Andina Research Society

Key words:

Propolis,
antimicrobial activity,
plant pathogens control.

Resumen

Los propóleos son sustancias resinosas complejas elaboradas por las abejas. Su composición química varía de acuerdo a la fuente vegetal. El estudio se realizó con muestras del noreste de Argentina. El objetivo del estudio fue comprobar el efecto fungicida y bactericida de soluciones etanólicas de propóleos procedentes de diferentes localidades de la provincia de Misiones sobre los fitopatógenos considerando la vegetación predominante en las áreas de origen sobre el índice de oxidación y el contenido de compuestos fenólicos. En las tres áreas estudiadas la vegetación ha sido modificada antrópicamente en forma diferente y los productos se correspondieron con las características de la flora introducida, compuesta por 7 especies vegetales diferentes en El Soberbio, 7 especies en El Dorado y 10 especies en Apóstoles. El índice de oxidación fue diferente en las tres áreas de estudio (7.37, 1.30 y 18.4), mientras el contenido de compuestos fenólicos no mostró diferencias significativas. Su actividad antimicrobiana a las concentraciones ensayadas (2, 4, 6, 8 y 10 %), no fueron efectivas en el control de cepas fúngicas probadas y si lo fueron sobre bacterias del género *Bacillus*.

© 2016. Journal of the Selva Andina Biosphere. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The propolises are resinous complex substances produced by bees. Their chemical composition is variable in according to the vegetal source. This study was realized with samples from northeast of Argentina. The aim of work were to check the fungicide and bactericide effects of etanolic solutions of propolis from different sites in Misiones province, on plant pathogens, considering the predominant vegetation in the original areas on the oxidation index and phenolic compositions. As results in three studied areas the vegetation has been modified anthropically in different form, and the products are corresponding with the introduced flora characteristics, composed of 7 different plant species in El Soberbio, 7 species in El Dorado and 10 species in Apostoles. The physical and chemical properties and therapeutic action in propolis from the three collection areas in the Misiones province were similar. The oxidation rate was different in the three study areas (7.37, 1.30 y 18.4), while the phenolic content showed no significant difference. Their antimicrobial activity to probed concentrations (2, 4, 6, 8 y 10 %), don't were effectiveness for control on the fungal strains but it is positive by the bacterial control of genus *Bacillus*.

© 2016. Journal of the Selva Andina Biosphere. Bolivian. All rights reserved.

Introducción

El propóleo es un producto compuesto de sustancias resinosas, gomosas, balsámicas, ceras, aceites esenciales, polen y otros compuestos, de consistencia viscosa. Es elaborado por abejas fundamentalmente a partir de resinas de ciertas especies vegetales, que transportadas al interior de la colmena y modificadas parcialmente con sus secreciones salivares, con el fin de hermetizar y mantener la asepsia de la misma. (Salamanca-Grosso *et al.* 2006).

La abeja colecta resinas (componente principal) desde yemas, brotes y cortezas de distintas especies botánicas según sean sus necesidades. Luego de mezclarlas con polen, secreciones salivares, ceras y materiales provenientes del suelo, procede a la elaboración del producto final que es el propóleo (Salamanca-Grosso *et al.* 2006). Es por eso que la composición del propóleo varía de colmena a colmena y de región a región, e incluso de estación a estación, según la vegetación presente.

Se ha observado que la actividad biológica y terapéutica de los propóleos proviene de la presencia de flavonoides en su composición, la cual varía en función del origen geográfico (Noriega-Salmón 2014).

Si bien desde comienzos del siglo XX se realizaron estudios sobre la constitución del propóleo, en los años setenta se determinó que el propóleo tenía una estructura química compleja. Así, Tolosa & Cañizares (2002) obtuvieron y caracterizaron extractos etanólicos y acuosos de propóleos de diferentes localidades del estado de Campeche, México, probando posteriormente su efectividad antimicrobiana sobre bacterias patógenas de humanos. Ellos identificaron como metabolitos de los propóleos: lactonas, saponinas, fenoles, triterpenos, taninos, alcaloides,

flavonoides, sustancias aminadas y leucoantocianinas, estas últimas sólo en los extractos acuosos.

Posteriormente el análisis de numerosas muestras de regiones geográficas diferentes, condujo al descubrimiento de que su composición química, además de compleja, no era constante, sino variable, aduciendo que esta variabilidad está asociada fundamentalmente a la fuente vegetal (Nieva-Moreno *et al.* 1999, Park *et al.* 2004, Kumazawa *et al.* 2004, Banskova *et al.* 2001); pero a pesar de estas diferencias, este producto posee similares propiedades antifúngicas y antibacterianas (Peña 2008). Por ello el estudio de la vegetación circundante al apiario es importante y puede ser enfocado desde la perspectiva de los objetivos buscados. En el caso particular de la apicultura, la importancia de determinar lo que se podría llamar la "flora indicadora", radica en que no todas las especies vegetales presentes son de interés para la abeja cuando realiza la elaboración del propóleo, miel, etc. Es por eso que el aprovechamiento de una colmena está relacionado cualitativamente y cuantitativamente con la flora presente.

A pesar de esa complejidad y variabilidad su composición química comprende básicamente: 50-55% de resinas y bálsamos; 30-40% de cera de abeja; 5-10% de aceites esenciales o volátiles; 5% de polen; y 5% de otros materiales orgánicos y/o minerales (Sosa-López *et al.* 2002, Salamanca-Grosso *et al.* 2006, Maidana 2007).

En la fracción resinosa del propóleo se encuentran compuestos fenólicos y flavonoides que son muy importantes a nivel terapéutico (Lozina *et al.* 2006, Salamanca-Grosso *et al.* 2006, Chailliou & Nazareno 2009). Entre los compuestos fenólicos podemos mencionar: ácidos: benzoico, cafeico, cumárico, salicílico que le otorgan al propóleo sus propie-

dades antifúngicas y antibacterianas; la presencia del ácido ferúlico le otorga al propóleo acción hemostática y coagulante (González-Guerra & Bernal-Méndez 1997).

Los polifenoles son un grupo de sustancias químicas en donde podemos encontrar taninos, ligninas y flavonoides, que son derivados del metabolismo secundario del ácido shikímico. Según Sales *et al.* 2006, los flavonoides tales como flavononas, flavonas, catequinas, antocianinas, isoflavonoides y flavonoles, son considerados compuestos que le dan al propóleo la característica de ser antioxidante, antimicrobiano, cicatrizante y antiinflamatorio. Además entre los componentes presentes en los propóleos, existen ácidos y compuestos no saturados, de origen vegetal-animal, éstos tienen la capacidad de oxidarse con permanganato de potasio, que es el fundamento del método cualitativo de medición de compuestos fenólicos. Es posible suponer que esta oxidación se vincula con la presencia de ácidos no saturados de la serie grasa, con diez átomos de carbono, característicos del organismo de las abejas y de sus secreciones glandulares. El valor del índice de oxidación está condicionado, en gran parte, por los compuestos fenólicos provenientes de la fuente vegetal de la cual la abeja extrae la resina y, en menor medida, por los ácidos grasos insaturados provenientes de la abeja (Maidana 1997).

En consonancia con el uso que le dan las abejas, el propóleo es un producto de extraordinario interés para la medicina e industria farmacéutica, al que se le atribuyen efectos anti-inflamatorios, inmunostimulantes, hepato-protectores, antivirales, antifúngicos, y antioxidante (Girgin *et al.* 2009), anti-protozoarios, carcinostáticos, antimicrobianos, anestésicos y de regeneración tisular (Banskota *et al.* 2000). Numerosos investigadores aportan informaciones sobre la actividad antimicrobiana de los pro-

póleos especialmente en el control de bacterias patógenas en humanos. Carrillo *et al.* (2011) informaron que los extractos etanólicos de propóleos tienen una actividad antibacteriana significativamente mayor que los extractos acuosos, y esta actividad depende de su procedencia y de la especie bacteriana evaluada. Por otro lado García-Bernal *et al.* (2007), también trabajaron sobre la efectividad antimicrobiana de dos extractos alcohólicos de propóleos de Cuba, siempre sobre patógenos humanos concluyendo que la efectividad antimicrobiana de los extractos depende de la procedencia del propóleo y de la especie bacteriana evaluada. En tanto Calderón-Puente De La Vega (2010) observó que todas las concentraciones de Propóleo Etanólico presentaron actividad antibacteriana, concluyendo que el Propóleo Etanólico al 15% presentó una mayor actividad antibacteriana, mientras que al 30% se observó una disminución en ésta, debido que a mayores concentraciones de Propóleo éste tiende a saturarse y por lo tanto disminuir su actividad antibacteriana.

Por último, Martínez-Galán (2009), estudió en Colombia la actividad de los propóleos contra los hongos fitopatógenos de dos especies de *Colletotrichum*, además de *Aspergillus* spp y *Penicillium* spp., encontrando que las especies de *Colletotrichum* fueron más sensibles a los propóleos, presentando un 39% de inhibición en el crecimiento radial a concentraciones entre 1000 y 5000 ppm.

El objetivo del estudio fue comprobar el efecto fungicida y bactericida de soluciones etanólicas de propóleos procedentes de diferentes localidades de la Provincia de Misiones; considerando el índice de oxidación, el contenido de compuestos fenólicos y tipo de vegetación predominante en las distintas zonas, y su efecto en la actividad antimicrobiana de los tipos de propóleos.

Materiales y métodos

Se seleccionaron tres áreas de la provincia de Misiones para la recolección de las muestras de propóleos.

Área 1: EL SOBERBIO. Ubicado a una latitud de 27° 17' S y una longitud de 54° 13' O a orillas del río Uruguay, a una altura de 184 a 200 msnm; presenta temperaturas medias de 21.2 °C; mínimas de 0 °C; máximas de 39.2 °C y precipitaciones de 1677 mm.

Área 2: ELDORADO. Se ubica en los 26° 23' 60" Latitud S y 54° 37' 60" Longitud O, a una altura de 212 a 228 msnm. El clima es subtropical húmedo, las lluvias llegan a los 2000 mm anuales. La temperatura media es de 25.4 °C, la mínima es de 14.4 °C y la temperatura máxima extrema registrada fue de 40 °C.

Área 3: APÓSTOLES. Ubicado a 27° 00" de Latitud S y 55° 45' 00" de Longitud O, a una altura de 100 a 120 msnm. La temperatura media es de 21.3 °C; la mínima es de -3 °C; la máxima es de 39 °C y las precipitaciones llegan a los 1584 mm anuales.

En cada área se seleccionaron productores, dentro de un radio de 10 Km, que utilizaban colmenas modelo Langstroth, con colonia de abejas de ecotipo salvaje, que presentaban una población entre 80000 a 100000 abejas, es decir una colmena fuerte. Por esta razón en la zona de El Soberbio se trabajó con 7 productores y 29 colmenas, en Eldorado con 7 productores y 17 colmenas, en la zona de Apóstoles con 9 productores y 36 colmenas.

Extracción de muestras de propóleos. Para la extracción de propóleos, se colocaron en la tapa de la colmena una malla de plástico tipo mosquitero. Una vez que estaban cubiertas con propóleos, se las ubicaba en bolsas de plástico transparente, que posteriormente se introducían en bolsas de plástico negro, para evitar los efectos del sol. También se extrajo

propóleos por raspado utilizando un cuchillo de acero inoxidable, procediéndose con mucho cuidado tratando de no incorporar pinturas ni restos de madera, de cabezales, tapa y entre tapa de las colmenas.

Todas las muestras fueron expuestas durante 1 h a -10 °C, para matar restos de polillas de las ceras si las hubiera. Luego se pesaron y en algunos casos se procedió a la mezcla de los propóleos procedentes de las mallas, ya que la cantidad recolectada es escasa y resulta insuficiente para realizar los distintos análisis.

Relevamiento de la vegetación. El estudio de la vegetación consistió en la confección de una lista de las especies presentes en cada sitio elegido para la recolección del propóleos, que después fueron relacionadas con la flora descrita por Martínez-Crovetto (1963), es decir, aquella que existía antes de las intensas acciones antrópicas deforestadora y de introducción, y la situación actual que revela que las modificaciones han sido sustanciales.

El relevamiento de la vegetación se realizó durante los meses de julio, octubre y enero de los años 2009 al 2012, tomándose un círculo de aproximadamente 15 Km, alrededor de los apiarios, complementado con los datos suministrados en forma no oficial por técnicos de los Ministerios de Ecología y del Agro y la Producción de la Provincia de Misiones. Los testigos se encuentran depositados en el herbario del IBONE-UNNE. Corresponden a las etiquetas Sosa-Vanni.

Se realizaron las siguientes determinaciones:

Índice de oxidación. Se utilizó el protocolo descrito en el Código Alimentario Argentino Cap. XVII, Art. Segundo, con modificaciones menores.

i) Se pesó 0.2 g de propóleos que fueron colocados en mortero agregando 10 ml de etanol de 96°, se llevó a volumen de 100 mL con agua destilada y luego se filtró, ii) Con una pipeta se tomaron 2 mL

de la solución diluida y se trasvasó a un vaso de precipitado de 50 mL, se agregó 1 mL de ácido sulfúrico al 20 % y luego se mezcló durante un minuto, iii) Se agregó una gota de solución de permanganato de potasio 0.1 N. Trabajando a una temperatura de 18 y 22 °C, se midió el tiempo de desaparición del color rosado de la solución. Un término medio de 22 seg como máximo indica propóleos de buena calidad. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Cuantificación de los compuestos fenólicos. El método utilizado propuesto por CEDIA-UNSE (Maldonado 2000) permite cuantificar los compuestos fenólicos totales presentes en el propóleos y se lo expresa como equivalentes de ácido gálico. Se basa en la formación de quelatos entre los compuestos polifenólicos del propóleos y el ión férrico del cloruro férrico.

Para la cuantificación se colocó 1 g de muestra de propóleos en bruto en un mortero, añadiendo 10 mL de etanol, se disolvió y filtró.

Se determinó por espectrofotometría utilizando el espectrofotómetro de absorción molecular Marca Perkin Elmer, modelo Lambda 25.

Figura 1 Propóleos en bruto provenientes de: A. El Soberbio, B. Eldorado, C. Apóstoles



Ensayos de control de hongos fitopatógenos con extractos etanólicos de propóleos. Todas las muestras de propóleos en bruto (Figura 1) se molieron en morteros de porcelana previamente esterilizados en autoclave, adicionando paulatinamente el alcohol hasta lograr una solución homogénea. En esta etapa se emplearon propóleos en bruto, es decir aquellos conteniendo diferentes proporciones de ceras u otras sustancias componentes y/o extrañas.

Por otro lado, con 24 h de antelación se prepararon tandas de 18 placas de Petri con agar-papa-glucosado (APG) al 2 % y pH 7. Luego este medio agarizado una vez frío y seco, fue perforado con sacabocados de 5 mm de sección, obteniéndose en cada placa 4 hoyos equidistantes.

Figura 2 Semillas de arroz germinadas con la técnica de Blotter test. En el círculo una de las semillas manchadas y no germinadas sobre la que desarrolló *C. oryzae*



A continuación, en cada hoyo realizado en el medio de cultivo con la ayuda de una pipeta graduada de 1mL, se vertió 0.1 mL de los extractos etanólicos, ya sea al 2, 4, 6, 8 y 10 %. Estas diferentes concentraciones constituyeron cada uno de los tratamientos. El experimento se planificó y cumplió con 3 repeticiones, con sus respectivos testigos, utilizán-

dose para tal fin medios de cultivo con soluciones etanólicas sin la adición de propóleos.

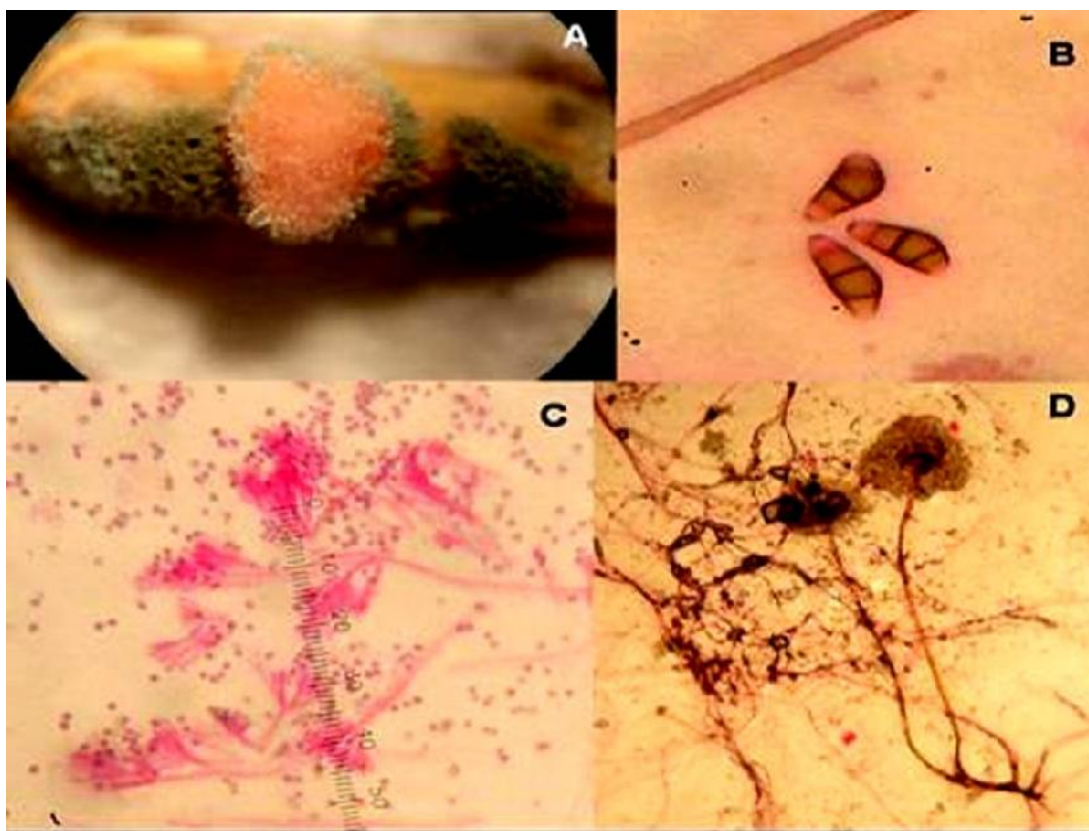
Como inóculo se utilizó un aislamiento de hongos que se desarrolló previamente en los germinadores de semillas de arroz (Figura 2), desde donde se aisló *Curvularia oryzae*. Este hongo es uno de los agentes causales del manchado de grano del arroz (Ellis 1971, Ou 1985).

En Argentina *C. oryzae* fue detectado en 1943 y actualmente se estudia su presencia por los daños en

las semillas de arroz del NEA (Marchionatto 1948, Gutiérrez & Cúndom 2008).

Previamente a su utilización se examinaron las estructuras fúngicas al microscopio para determinar su identidad. Una vez seleccionada la cepa se la subcultivó a una caja de Petri donde se la dejó crecer hasta cubrir aproximadamente toda su superficie (5 días).

Figura 3 A. Semilla de arroz con desarrollo fúngico. B. Conidios de *Curvularia* sp. C. Estructuras conidiales de *Penicillium* sp. D. Estructuras de *Rhizopus* sp., desarrollados sobre semillas de arroz tratadas con propóleos



Para el tratamiento experimental las cajas previamente preparadas con APG estéril se perforaron con el sacabocado (4 hoyos por caja) y se inocularon en su centro con un disco de inóculo fúngico de *C.*

oryzae preparado. A la vez en cada caja se incorporó en cada hoyo 0.1 ml de la solución de propóleos.

Las placas se incubaron luego en estufa de cultivo a 25 °C de temperatura, durante 10 días, tiempo en el

cual se realizaron las mediciones del crecimiento fúngico.

Para la lectura del tamaño del crecimiento fúngico se hicieron mediciones del diámetro con una escala milimetrada y a la vez se observó la posible formación de halos de inhibición. Estas mediciones se realizaron al tercer y octavo día.

Con los datos obtenidos se procedió a realizar un análisis de varianza. (Calzada-Benza 1970.)

Ensayos de control de bacterias fitopatógenas con extractos etanólicos de propóleos

Por otro lado, para comprobar experimentalmente el comportamiento de los extractos de propóleos en el manejo de enfermedades bacterianas de vegetales, se empleó una cepa de bacterias causantes de podredumbres en semillas de arroz (Figura 4) del género *Bacillus* sp.

Se realizaron primero aislamientos en placas de Petri, partiendo de semillas de arroz que manifestaron síntomas, una vez puestas en cámaras de germinación empleando el método en papel filtro (*blotter test*).

Figura 4 Semillas incubadas en el *blotter test* que desarrollaron exudados bacterianos, desde donde se partió para el aislamiento de la cepa de *Bacillus* sp



Para comenzar las tareas de laboratorio se esterilizó todo el material instrumental en autoclave o flameo por mechero Bunsen, para una mayor ase-

sia, el lugar se asperjó con una solución diluida de hipoclorito de sodio al 2.5 %.

Las semillas fueron previamente desinfectadas con alcohol de 70 %, que se pasaron luego por hipoclorito de sodio al 2.5 %, enjuagando finalmente en agua destilada estéril, durante un minuto cada lavado con agitación manual enérgica.

Luego de escurridas sobre papel absorbente las semillas se pasaron en forma aséptica a las bandejas de incubación, cuyo fondo estaba recubierto con doble capa de papel de filtro húmedo.

Se usó un recipiente cerrado con el fin de mantener una humedad elevada y asepsia; manteniendo una distancia entre las semillas de 20 mm. Las bandejas se incubaron luego durante 72 h en estufa a 25 °C.

Al cabo de ese tiempo las semillas que manifestaron síntomas de bacteriosis se separaron del resto y se procedió a aislar la cepa bacteriana presente en las mismas.

En un tubo de ensayo con 10 mL de agua esterilizada se preparó una suspensión de bacterias desde las semillas enfermas y con tal suspensión se procedió al estriado con una pipeta Pasteur sobre medio de cultivo.

El medio utilizado para las siembras fue el agar papa glucosado (APG) al 2 %, pH 7.0 en placas de Petri.

Las placas sembradas se incubaron en estufa de cultivos a temperatura constante de 27 °C durante 48 h.

Para la obtención de aislamientos puros, se realizaron diluciones de las cepas así obtenidas, pasándolas a tubos con agua destilada estéril, con relaciones 1:10, 1:100, 1:1000 y 1:10.000.

Los tubos se dejaron reposar a temperatura ambiente durante una hora y se procedió luego a estriar cada dilución en placas del mismo medio APG. Nuevamente se incubaron las placas a 27 °C durante 48 h.

De las bacterias que se desarrollaron en el cultivo de medio agarizado, se repicaron nuevamente a placas para su multiplicación, subcultivando también a un

tubo de ensayo con medio de cultivo inclinado (en pico de flauta) para control y resguardo de la cepa pura.

A la vez que se preparaban las bacterias para el ensayo de control se procedió a preparar las suspensiones etanólicas de propóleos de tres procedencias diferentes (El Soberbio, Apóstoles y Eldorado). Cada una de tales suspensiones de propóleos a su vez se diluyó al 2, 4, 6, 8 y 10 % respectivamente. De la misma forma que en los ensayos con hongos.

A fin de conocer el comportamiento antibiótico bactericida de los propóleos sobre las cepas bacterianas, se procedió a cumplir con las pruebas experimentales de control de la siguiente manera:

Técnica de microdifusión en agar

Se vertió el medio de cultivo en las placas de Petri dejando éstas reposar en el flujo laminar durante al menos medio día, a fin de que se seque la humedad de condensación.

Luego cada una de las cajas se perforó con sacabocados de 0.5 cm esterilizado previamente, haciendo 4 hoyos por caja.

Bajo el flujo laminar se vertió la suspensión de propóleos, de cada procedencia en sus diferentes concentraciones dentro de los hoyos de las placas de Petri con el medio agarizado y las placas se dejaron secar durante 48 horas en estufa de cultivo a 25 °C.

Se aclara que el secado se cumplió en estufa de cultivos con las cajas cerradas e invertidas para evitar contaminaciones.

Una vez secas estas cajas fueron inoculadas con las suspensiones conocidas de bacterias recién preparadas, y las placas del ensayo fueron nuevamente puestas a incubar por 72 y 120 h respectivamente en cada oportunidad antes de su examen y medición de crecimiento bacteriano. Este ensayo se repitió tres veces.

Para los diferentes tratamientos se emplearon 15 cajas de Petri preparadas con el medio de cultivo, a las cuales se le practicaron las perforaciones respectivas y se les aplicaron las distintas suspensiones de propóleos, repitiéndose esto para el propóleos de cada una de las tres localidades de procedencia.

Como tratamiento testigo se prepararon 3 placas con el medio agarizado, las que se inocularon únicamente con la suspensión de bacterias preparadas a tal fin sin el aditivo de propóleos. En su lugar se vertió 0.1 mL de etanol o agua destilada estéril.

Para la inoculación de las bacterias al medio se siguió el método de turbidez equivalente al tubo de 0.5 en la escala Mac Farland, que es equivalente a 1.5×10^8 UFC / mL.

Análisis estadísticos: Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), con el programa INFOTAT 2008.

Resultados

A. Flora de cada área de estudio

El Soberbio. Los establecimientos visitados se encuentran en el distrito que Martínez-Crovetto (1963) llamó “Distrito de los helechos arborescentes”. Este distrito se ubica sobre la vertiente oriental de la sierra Central, limitando al norte con el Sector Planaltense y al este y sur con el Distrito de los laureles.

Tabla 1 Árboles Nativos

Familia	Especie	Nombre común
Areaceae	<i>Arecastrum romanzoffianum</i> Cham. Becc.	pindó
Aquifoliceae	<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.	yerba mate
Boraginaceae	<i>Cordia trichotoma</i> Vell.Steud.	peteribí
Boraginaceae	<i>Patagonula americana</i> L.	guayaibí
Fabaceae	<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	cebil colorado
Fabaceae *	<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	timbó
Fabaceae *	<i>Myrocarpus frondosus</i> Allem	incienso
Fabaceae	<i>Pelthophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.	caña fistula
Lauraceae	<i>Nectandra megapotamica</i> (Spreng.) Mez	laurel negro
Lauraceae	<i>Ocotea puberula</i> (Rich.) Nees	laurel guaica
Lauraceae	<i>Ocotea pulchella</i> (Ness) Mez	laurel alayana
Myrsinaceae	<i>Myrsine balansae</i> (Mez) Otegui	-
Meliaceae	<i>Cedrela fissilis</i> Vell.	cedro
Meliaceae	<i>Cabralea canjerana</i> DC.	cancharana
Rutaceae	<i>Balfourodendron riedelianum</i> Engl.	guatambú blanco
Sapindaceae	<i>Cupania vernalis</i> Cambess.	camboatá
Malvaceae	<i>Luehea divaricata</i> Mart.	azota caballo
Verbenaceae	<i>Vitex megapotamica</i> (Spreng.) Moldenke	taruma

*Especie resinosa

En esa época, este distrito aún podía ser considerado como una selva en equilibrio, caracterizada por Martínez-Crovetto (1963), como una selva mixta de laurel y guatambú, con la variante de que aquí se

presentaban cuatro especies de helechos arborescentes pertenecientes a la familia de las *Cyatheaceas*, con troncos que llegaban hasta los 5 m de altura.

Esta población se encontraba en lugares protegidos por árboles de alto porte, cerca de cursos de agua.

La acción antrópica alteró la selva, y estos helechos desaparecieron porque no soportan el exceso de luz y la exposición al sol. Si se destruye la selva, por talado o rizado, aparecen especies características que no estaban antes en el lugar, este estado de la sucesión secundaria es llamado “capuera”, del guaraní, “lugar donde crecerá el monte” (Martínez-Crovetto 1963).

Con el tiempo se desarrollaron otras especies y arbustos que permitieron el desarrollo de plántulas de especies arbóreas, este estado de la sucesión secundaria llamada “capuerón” es el que encontramos en

estos predios donde los habitantes han desarrollado actividades antrópicas en gran parte de las chacras, dejando parches o grupos de especies arbóreas nativas para sombra o protección.

Esa mezcla de especies autóctonas con especies introducidas en el ambiente por la ocupación del hombre, son las que se pueden observar en la lista de vegetación que hemos elaborado y que se encuentra a continuación.

En esta localidad se han podido identificar los siguientes representantes de la vegetación:

Tabla 2 Estrato arbustivo

Familia	Especie	Nombre común
Annonaceae	<i>Rollinia emarginata</i> Schltl.	aratiku
Celtidaceae	<i>Trema micrantha</i> (L.) Blume	-
Euphorbiaceae	<i>Manihot grahamii</i> Hook.	mandioca brava
Asteraceae *	<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.	chilca
Fabaceae	<i>Acacia bonariensis</i> Gillies Hook. & Arn.	uña de gato
Fabaceae	<i>Acacia tucumanensis</i> Griseb.	yuquerí guazú
Fabaceae	<i>Acacia velutina</i> Benth.	yuquerí
Loganiaceae	<i>Strychnos brasiliensis</i> (Spreng.) Mart.	-
Myrtaceae	<i>Eugenia uniflora</i> L.	pitanga
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	guayaba
Salicaceae	<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	-
Solanaceae	<i>Solanum granuloso-leprosum</i> Dunal	fumo bravo
Piperaceae	<i>Piper amalago</i> L.	rodilla de vieja
Verbenaceae	<i>Aloysia virgata</i> (Ruiz & Pav.) Pers.	tarumá

*Especie resinosa

Tabla 3 Especies herbáceas

Familia	Especie	Nombre común
Amaranthaceae	<i>Ortopapus</i> sp.	-
Asteraceae *	<i>Eupatorium</i> sp.	-
Solanaceae	<i>Solanum sisymbriifolium</i> Lam.	tutiá
Malvaceae	<i>Triumpheta semitriloba</i> Jacq.	

*Especie resinosa

Tabla 4 Especies Introducidas

Familia	Especie	Nombre común
Euforbiaceae	<i>Ricinus communis</i> L.	tártago
Moraceae	<i>Morus alba</i> L.	mora
Myrtaceae*	<i>Eucalyptus</i> sp.	eucalipto
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i> L.	naranja agrio
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	naranja dulce
Pinaceae	<i>Pinus eliotti</i> (Engelm)	pino
Pinaceae	<i>Pinus taeda</i> L.	pino
Euforbiaceae	<i>Ricinus communis</i> L.	tártago
Moraceae	<i>Morus alba</i> L.	mora
Myrtaceae*	<i>Eucalyptus</i> sp.	eucalipto
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i> L.	naranja agrio
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	naranja dulce
Pinaceae	<i>Pinus eliotti</i> (Engelm)	pino
Pinaceae	<i>Pinus taeda</i> L.	pino

*Especie resinosa

El dorado. Siguiendo el esquema fitogeográfico de Martínez-Crovetto (1963), esta localidad se encuentra ubicada en el “Distrito de los laureles”. En general estas selvas subtropicales se caracterizan por la dominancia de *Nectandra megapotamica* (Laurel negro) y *Nectandra lanceolata* (Laurel amarillo).

Normalmente este distrito era dominado por ambientes con un dosel continuo de selva que ha sido alterado, donde los acompañantes de mayor densidad eran los siguientes: *Tabebuia heptaphylla* (Lapacho negro); *Cordia trichotoma* (Peteribí); *Patagonula americana* (Guayaibí); *Apuleia leiocarpa* (Grapia); *Dalbergia variabilis* (Isapuy); *Holocalyx balansae* (Alecrín); *Lonchocarpus leucanthus* (Rabotitá); *Lonchocarpus nitidus* (Rabotitá); *Myrocarpus frondosus* (Incienso); *Parapiptadenia rigida* (Anchico colorado); *Peltophorum dubium* (Ibirá pitá); *Ocotea puberula* (Laurel negro); *Nectandra lanceo-*

lata (Laurel amarillo); *Nectandra megapotamica* (Laurel); *Cabralea canjerana* (Cancharana); *Cedrela fissilis* (cedro); *Balfourodendron riedelianum* (guatambú blanco); *Diatenopteryx sorbifolia* (María preta); *Chrysophyllum gonocarpum* (Guatambú blanco); *Chrysophyllum marginatum* (cedro); *Prunus subcoriacea* (Aguay) (Figura 4)

En la actualidad, por explotación la vegetación está alterada y reducida a los representantes que determinamos y detallamos más abajo. En esta lista se observa una marcada reducción en la riqueza florística de las especies arbóreas, las cuales quedaron limitadas a pequeñas isletas de selva con mayor o menor grado de alteración, pero se agregan especies que empiezan a predominar. Es muy difícil determinar el grado de presencia de estas especies dado que en la actualidad todavía se siguen explotando algunas de

interés maderable, como cedro y cancharana, entre otras.

Tabla 5 Árboles nativos

Familia	Especie	Nombre común
Aquifoliaceae	<i>Ilex paraguariensis</i> A. St. -Hil. var. paraguariensis	yerba mate
Araucariaceae	<i>Araucaria angustifolia</i> (Bertol) Kuntze	pino paraná
Arecaceae	<i>Arecastrum romanzoffianum</i> (Cham.) Becc	pindó
Bignoniaceae*	<i>Tabebuia heptaphylla</i> (Vell.) Toledo	lapacho negro
Boraginaceae	<i>Cordia trichotoma</i> (Vell.) Steud.	peteribí
Boraginaceae	<i>Patagonula americana</i> L.	guayaibí
Cecropiaceae	<i>Cecropia pachystachya</i> Trécul	ambay
Fabaceae	<i>Apuleia leiocarpa</i> J.F.Macbr.	grapia
Fabaceae	<i>Dalbergia variabilis</i> Vogel	isapuy
Fabaceae	<i>Holocalyx balasae</i> Micheli	alecrín
Fabaceae	<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	timbó
Fabaceae	<i>Lonchocarpus leucanthus</i> Burkart	rabo itá
Fabaceae	<i>Lonchocarpus muehbergianus</i> Hassl.	rabo molle
Fabaceae	<i>Parapiptadenia rigida</i> (Benth.) Brennan	anchico colorado
Fabaceae	<i>Mirocarpus frondosus</i> Allem.	incienso
Fabaceae	<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.	caña fistula
Fabaceae	<i>Inga uruguensis</i> Hooker & Arn.	-
Fabaceae	<i>Inga marginata</i> Willd.	ingá
Lauraceae	<i>Nectandra megapotamica</i> Mez	laurel negro
Lauraceae	<i>Ocotea puberula</i> (Rich.) Nees	laurel negro
Lauraceae	<i>Nectandra lanceolata</i> Ness & Mart	laurel amarillo
Malvaceae	<i>Bastardiopsis densiflora</i> (Hook. & Arn.) Hassl.	loro blanco
Meliaceae	<i>Cabralea canjerana</i> (Vell.) Mart.	cancharana
Meliaceae	<i>Cedrela fissilis</i> Vell.	cedro
Meliaceae	<i>Trichilia mollis</i> C.DC.	catiguá
Meliaceae	<i>Trichilia catigua</i> A. Juss.	catiguá guazú
Moraceae	<i>Maclura tinctoria</i> (L.) D.Don ex Steud.	mora amarilla
Myrtaceae	<i>Hexaclamis edulis</i> (O.Berg) Kausel & D. Legrand	-
Rosaceae	<i>Prunus subcoriacea</i> Koehne	persiguero
Rutaceae	<i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engl.) Engl.	guatambu blanco
Rutaceae	<i>Helieta apiculata</i> Benth.	canela do venado
Rutaceae	<i>Fagara rhoifolia</i> (Lam.) Engl.	tembetarí
Sapindaceae	<i>Diatenopteryx sorbifolia</i> Radlk.	maría preta
Sapindaceae	<i>Cupania vernalis</i> Cambess.	-
Sapotaceae	<i>Chrysopyllum gonocarpum</i> (Mart. & Eichler) Engl.	aguay
Sapotaceae	<i>Chrysopyllum marginatum</i> (Hook. & Arn.) Radlk.	vasuriña

*Especie resinosa

Tabla 6 Estrato arbustivo

Familia	Especie	Nombre común
Apocinaceae	<i>Tabernaemontana catharinensis</i> A.DC.	horquetero
Euphorbiaceae	<i>Manihot grahamii</i> Hook.	mandioca brava
Fabaceae *	<i>Acacia velutina</i> Bertold.	yuquerí
Piperaceae	<i>Piper gaudichaudianum</i> Kunth ex C.DC.	rodilla de vieja
Solanaceae	<i>Solanum granuloso-leprosum</i> Dunal	fumo bravo
Ulmaceae	<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg.	tala
Ulmaceae *	<i>Celtis tala</i> Gill. ex Planch.	tala
Verbenaceae	<i>Aloysia virgata</i> (Ruiz & Pav) Pers.	niño rupá

*Especie resinosa

Tabla 7 Especies herbáceas

Familia	Especie	Nombre común
Lamiaceae *	<i>Leonurus sybiricus</i> L.	cola de león
Oxalidaceae	<i>Oxalis conorrhiza</i> Jacq.	vinagrillo, trébol falso
Sapindaceae	<i>Cardiospermum halicacabum</i> L.	corazoncillo

*Especie resinosa

Tabla 8 Enredaderas

Familia	Especie	Nombre común
Bignoniaceae	<i>Pyrostegia venusta</i> Miers	Bignonia venusta

Tabla 9 Especies introducidas

Familia	Especie	Nombre común
Asteraceae*	<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.	chilca
Myrtaceae *	<i>Eucalyptus sp.</i>	eucalipto
Rhamnaceae	<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	palito dulce
Rutaceae*	<i>Citrus sp.</i>	cítricos
Salicaceae*	<i>Populus spp.</i>	álamo
Pinaceae *	<i>Pinus elliotii</i> Engelm	pino
Pinaceae*	<i>Pinus taeda</i> L.	pino

*Especie resinosa

Apóstoles. La zona bajo estudio está comprendida en el extremo sur de la provincia de Misiones, faja ocupada por el “Distrito del urunday” (Martínez-Crovetto 1963), limitando con el “Distrito de los campos”. Toda la región ha sufrido una modificación importante en cuanto a vegetación, encontrándose en una sucesión secundaria mantenida por la

acción antrópica y con representantes de lo que el citado autor llamó integrantes de la “capuera”.

Puede considerarse como una zona de transición entre ambos distritos donde la vegetación arbórea se encuentra casi exclusivamente representada por *Schinus molle* y *Lithraea molleoides*, como las especies más conspicuas y de mayor “presencia”, ambos eran acompañantes más notables del “urunday”,

Astronium balansae, hoy ausente y casi en extinción. Los lugares inundables se encuentran totalmente ocupados por *Cephalanthus glabratus*, “sarandí”.

Actualmente encontramos una mezcla importante de plantas cultivadas y propias de ambientes alterados que se describen a continuación.

Tabla 10 Árboles nativos

Familia	Especie	Nombre común
Anacardiaceae *	<i>Lithraea molleoides</i> (Vell.) Engl.	chichita negra
Anacardiaceae *	<i>Schinus terebintifolius</i> Raddi	chichita blanca
Apocinaceae	<i>Tabernaemontana catharinensis</i> A. DC.	palo víbora, sapirandí
Euphorbiaceae	<i>Sapium haematospermum</i> Müll. Arg.	curupí
Fabaceae	<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.	caña fistula
Fabaceae	<i>Parapiptadenia rigida</i> (Benth) Brenan	anchico colorado
Rutaceae	<i>Fagara rhoifolia</i> (Lam.) Engl.	tembetarí

*Especie resinosa

Tabla 11 Palmeras

Familia	Especie	Nombre común
Arecaceae	<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart.	mbocayá
Arecaceae	<i>Arecastrum romanzoffianum</i> (Cham.) Becc.	pindó
Arecaceae	<i>Butia yatay</i> (Mart.) Becc.	yatay

Tabla 12 Estrato arbustivo

Familia	Especie	Nombre común
Aquifoliaceae	<i>Ilex paraguariensis</i> St.Hil. var. paraguariensis	yerba mate
Anacardiaceae	<i>Schinus longifolius</i> (Lindl.) Speg.	molle
Asteraceae	<i>Vernonia tweedieana</i> Baker	-
Asteraceae	<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.	Chilca
Erytroxylaceae *	<i>Erytroxilon</i> sp.	-
Fabaceae *	<i>Acacia caven</i> (Molina) Molina	Espinillo
Fabaceae	<i>Mimosa paraguayana</i> Micheli	Pitanga
Fabaceae	<i>Senna obtusifolia</i> L.	falso café
Meliaceae	<i>Trichilia clausenii</i> C.DC.	Catigua
Sapindaceae	<i>Allophylus edulis</i> (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Radlk.	Kokú
Solanaceae	<i>Solanum granuloso-leprosum</i> Dunal	fumo bravo
Rubiaceae	<i>Cephalanthus glabratus</i> K. Schum	Sarandí

*Especie resinosa

Tabla 13 Especies herbáceas

Familia	Especie	Nombre común
Asteraceae	<i>Senecio brasiliensis</i> (Spreng.) Less	Primavera
Asteraceae	<i>Aster sp.</i>	maría mole
Asteraceae	<i>Solidago chilensis</i> Meyen	vara de oro
Asteraceae	<i>Pterocaulon sp.</i>	-
Asteraceae	<i>Vernonia chamaedrys</i> Less.	-
Apiaceae	<i>Eryngium eburneum</i> Decne.	Tuturutú
Berberidaceae	<i>Berberis sp.</i>	-
Malvaceae	<i>Sida rhombifolia</i> L.	escoba dura
Poaceae	<i>Elionurus muticus</i> (Spreng.) Kuntze	-
Polygonaceae	<i>Polygonum punctatum</i> Schwein.ex Meissn.	-
Pontederiaceae	<i>Pontederia cordata</i> L.	-
Solanaceae	<i>Solanum villarisense</i> Moroni	tutía negra
Solanaceae	<i>Solanum glaucophyllum</i> Desf.	duraznillo blanco
Solanaceae	<i>Solanum atropurpureum</i> Schrank	-
Verbenaceae	<i>Glandularia sp.</i>	margarita punzó
Verbenaceae	<i>Vitex litoralis</i> Kunth	-
Verbenaceae	<i>Aloysia virgata</i> (Ruiz & Pav.) Per.	-
Verbenaceae	<i>Vitex megapotamica</i> (Spreng.) Moldenke	Tarumá

Tabla 14 Especies introducidas

Familia	Especie	Nombre común
Cupresaceae	<i>Thuja sp.</i>	tuya
Cupresaceae	<i>Juniperus sp.</i>	-
Myrtaceae	<i>Callistemon</i> R. Br.	limpia tubos
Myrtaceae *	<i>Eucalyptus sp.</i>	eucalipto
Protaceae	<i>Grevillea robusta</i> A. Cunn.	roble sedoso
Ramnaceae	<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	palito dulce
Rosaceae *	<i>Mespilus germanica</i> L.	níspero
Rutaceae	<i>Citrus spp.</i>	-
Scrofulariaceae	<i>Paulownia tomentosa</i> (Thunb.) Steud.	kiri
Salicaceae	<i>Populus spp.</i>	álamo

*Especie resinosa

B. C. A continuación se presentan los resultados obtenidos en las determinaciones de índice de oxidación y contenido de compuestos fenólicos.

Tabla 15 Índice de oxidación de los propóleos en las tres zonas analizadas

Localidad	s
El Soberbio	7.37 b
Eldorado	1.30 a
Apóstoles	18.42 c

Tabla 16 Contenido de compuestos fenólicos en las localidades bajo estudio

Localidad	Compuestos fenolicos
El Soberbio	12.91 a
Eldorado	13.29 a
Apóstoles	14.65 a

D. Los resultados obtenidos en los ensayos de control sobre hongos y bacterias fitopatógenas son los siguientes:

Tabla 17 Ensayo comparativo de efectividad en el control de *Curvularia oryzae* en distintas concentraciones (%) de propóleos en solución etanólica

Localidades	Tratamientos					Testigos	
	2%	4%	6%	8%	10%	Etanol	Acuoso
El Saborido	3.58abc	2.25a	3.22abc	3.07ab	2.85ab	4.67bc	5.55c
Eldorado	3.22ab	3.58ab	2.90a	2.67a	3.20ab	4.67ab	5.55b
Apóstoles	3.18ab	3.73a	3.08ab	3.40ab	2.72a	4.67ab	5.55b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Figura 5 Comportamiento de las diluciones al 10% de propóleos (abajo) respecto a los testigos (arriba) a los 5 días de cultivo

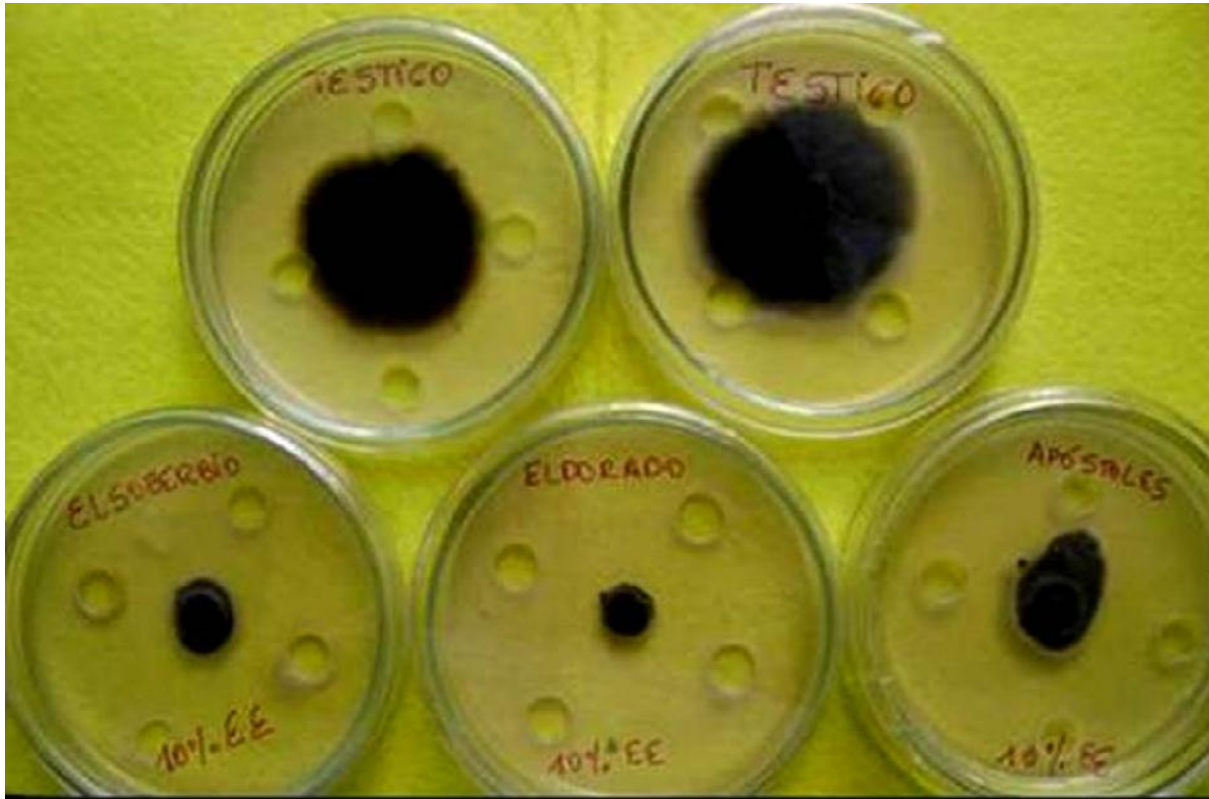
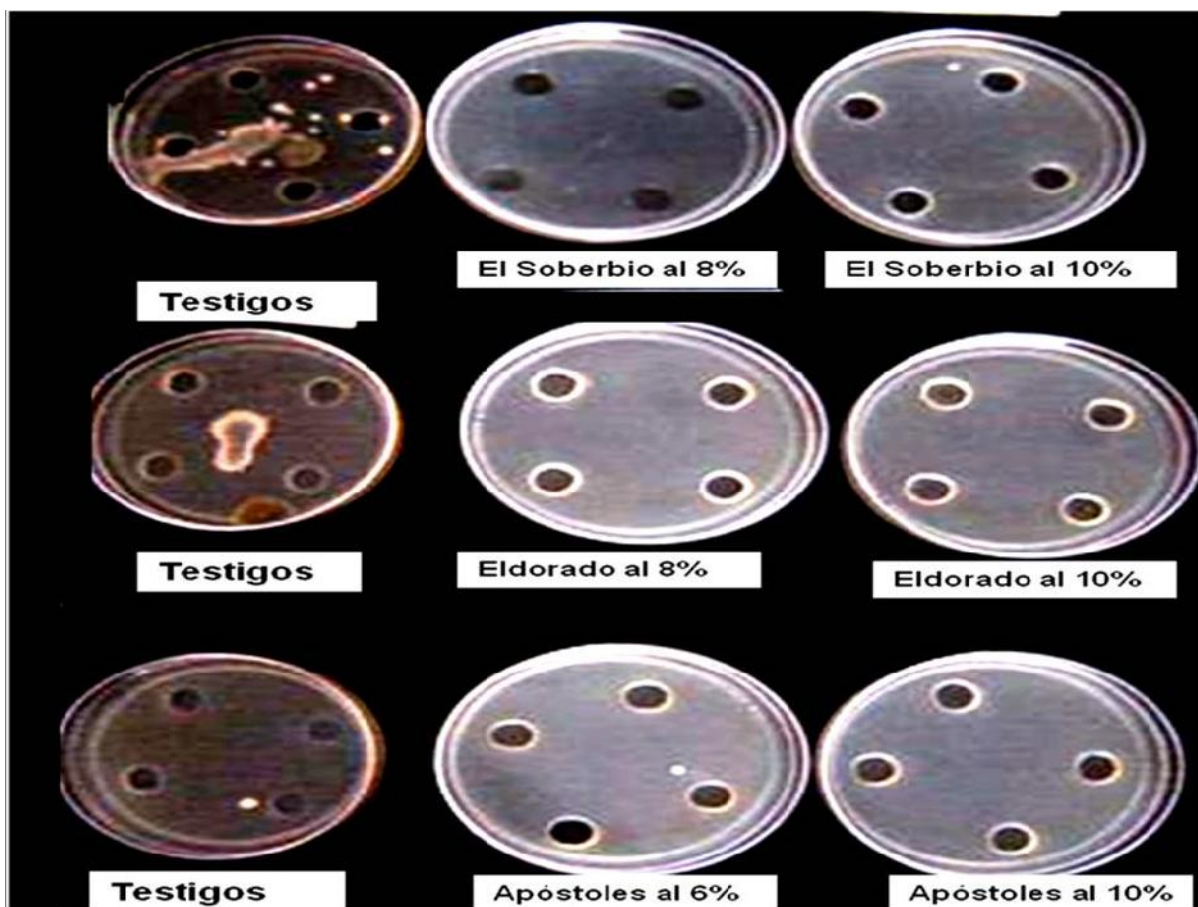


Tabla 18 Control de bacterias fitopatógenas con extractos etanólicos de propóleos, utilizando la técnica de microdifusión.

Familia	Especie	Nombre común
10 %	6,90	a
6%	16,95	b
2%	18,69	b
8%	18,89	b
4%	21,16	b
Testigo	55,14	c

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Figura 6 Actividad antimicrobiana y bactericida sobre bacterias fitopatógenas de soluciones de propóleos aplicadas con la técnica de microdifusión en placa de agar



Discusión

A. Relevamiento de la vegetación. En las tres áreas estudiadas la vegetación ha sido modificada antrópicamente y en forma diferente. En las áreas de influencia de los apiarios se distinguen:

Área de El Soberbio: con menor forestación o cultivo, hay presencia de cítricos y mayor superficie forestada con eucaliptos que pinos.

Área de Eldorado: con importantes forestaciones de pino y eucaliptos en relación uno a uno, zonas de campo y capuera.

Área de Apóstoles: amplias forestaciones de eucaliptos y menor de pinos.

B. Índice de Oxidación. De acuerdo a los resultados de los ensayos, se encontraron diferencias significativas entre las distintas localidades. El propóleos de la localidad de Apóstoles presenta un alto Índice de Oxidación (18.42 s) a diferencia de El Soberbio (7.37 s) y el propóleos de la localidad de Eldorado se distingue con el valor más bajo (1.3 s), siendo por lo tanto el mejor respecto a esta característica.

Maidana (1997) clasifica a los propóleos en bruto de acuerdo al Índice de Oxidación en tres tipos. Según esa clasificación en este trabajo el propóleo de Eldorado es de tipo "A" (0 -1.5 s); mientras que el de El Soberbio y Apóstoles es del tipo "C" (5.1-12.0 s).

C. Cuantificación de compuestos fenólicos: En el contenido de compuestos fenólicos no se observó diferencias significativas entre las tres zonas bajo estudio, como puede observarse en la Tabla 2.

El contenido de estos compuestos fenólicos supera el valor mínimo de 5%, establecido en el Reglamento Brasileño de calidad de propóleos (Ministerio de Agricultura de Brasil-APACAME 1999). El contenido promedio de compuestos fenólicos totales que se encontraron en los propóleos analizados fue del 13.61% y es superior al 12.33% del Parque Chaqueño, establecido por Maidana 1997, igualmente también supera el valor de 16.07% de la región Noroeste, obtenido por Maldonado 2000, esta diferencia se debe probablemente a las diferentes especies botánicas que las abejas utilizan como fuente de resinas.

D. Control de hongos fitopatógenos: A diferencia de lo encontrado por (Sánchez & Acebedo 2001), no se observó que las concentraciones ensayadas de los distintos propóleos probados hayan sido efectivas en el control de la cepa patógena utilizada en este trabajo, ya que en general no fue diferente a los testigos tanto en solución con etanol y acuoso (Tabla 18). También puede verse que el crecimiento fúngico en los distintos tratamientos de propóleos procedentes de las tres regiones no manifestaron entre sí diferencias aparentes en crecimiento, pero diferenciándose las tres del testigo. En el control de *C. oryzae* hubo diferencia con respecto al testigo, pero si bien son diferentes

como se observa en la Figura 5, esas diferencias no son significativas estadísticamente.

E. Control de bacterias fitopatógenas: En la Tabla 19 se observa que todas las dosis de propóleos en extracto etanólico, presentaron diferencias significativas con el testigo, en el ensayo para control de bacterias fitopatógenas. Aplicando la técnica de microdifusión en agar no se observó crecimiento bacteriano, salvo en las placas de los tratamientos testigos, constatándose un eficiente control preventivo de los propóleos sobre las bacterias; en coincidencia con lo informado en Argentina por Solórzano *et al.* (2008), Londoño-Orozco *et al.* (2008), en México.

Los resultados preliminares obtenidos en el control de bacterias mediante el test de microdifusión fueron promisorios y por lo tanto este aspecto será tomado como objetivo de una nueva línea de investigación.

Se comprobó que en las tres áreas estudiadas la vegetación ha sido modificada antrópicamente y en forma diferente. Actualmente se compone de 18 árboles nativos, 14 especies arbustiva, 4 especies herbáceas y 7 especies introducidas en la localidad de El Soberbio, en tanto la vegetación de El Dorado se compone de 36 especies de árboles nativos, 8 especies arbustivas, 3 especies herbáceas, 1 especie de porte enredadera y 7 especies introducidas. Finalmente en Apóstoles la vegetación se compone de 7 especies de árboles nativos, 3 especies de palmeras, 12 especies arbustivas, 18 especies herbáceas y 10 especies introducidas.

El índice de oxidación, el contenido de compuestos fenólicos y la acción terapéutica en los propóleos provenientes de las tres zonas de estudio de la provincia de Misiones fueron similares.

La actividad antimicrobiana a las concentraciones ensayadas no fueron efectivas en el control de *Curvularia oryzae* y si lo fueron sobre *Bacillus*.

Conflictos de intereses

Los autores han cumplido las normas éticas de publicación, y no generan conflicto de interés en la presente investigación.

Agradecimientos

Los autores agradecen al ministerio del agro y la producción de la provincia de misiones.

Literatura citada

- Banskota AH, Tezuka Y, Adnyana IK, Midorikawa K, Matsushige K, Message D, *et al.* Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *J Ethnopharmacol.* 2000; 72: 239-246.
- Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res.* 2001; 15:561-71.
- Calderón Puente De La Vega, AD. 2010. Actividad antibacteriana in vitro de Soluciones de propileo etanólico sobre dos Bacterias periodontopatógenas frecuentes en la enfermedad gingivoperiodontal. Hospital Militar Central, Lima. [Tesis de licenciatura]. Escuela Profesional de Odontología, Lima, Perú. 104 pp.
- Calzada Benza, J. 1970. Métodos estadísticos para la investigación. Edit. Jurídica S.A. Lima. Perú. 1970.
- Carrillo ML, LN Castillo, R Mauricio. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina (México). *Inf Tecnol.* 2011; 22(5): 21-28.
- Cátedra de Estadística y Biometría de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba. (2008) [Software] <http://www.infostat.com.ar/>
- Chailliou LL, Nazareno MA. Bioactividad de propóleos de Santiago del Estero, Argentina, relacionados con su composición química. *Food Sci Technol.* 2009; 42 (8): 1422-1427.
- Ellis MB. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England. 1971; 608 pp.
- García-Bernal M, Medina-Marrero R, Hidalgo-Yanes PI, Delgado-Lasval MS, Truffin-Truffin E, Gómez-Marrero R. Actividad *in vitro* del Propóleos frente a Patógenos Bacterianos aislados de Infecciones Humanas. *Lat Am J Pharm.* 2007; 26 (1): 100-102.
- Girgin G, Baydar T, Ledochowski M, Schennach H, Bolukbasi D, Sorkun K, *et al.* Immunomodulatory effects of Turkish propolis: Changes in neopterin release and tryptophan degradation. *Immunobiology.* 2009; 214: 129-134.
- González-Guerra A, Bernal-Méndez R. Propóleos: Un camino hacia la salud. Ed. Pablo de la Torre. La Habana. 1997; 132 pp.
- Gutiérrez SA, Cúndom MA. Prevalencia e incidencia de hongos en semillas de arroz en Argentina. En: Actas VI Congreso Latinoamericano de Micología, Mar del Plata, Argentina. 2008; 254 pp.
- Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Actividad antioxidante de propóleos de diferentes orígenes geográficos. *Food Chem.* 2004; 84(3): 329-339.

- Londoño-Orozco A, Penieres-Carrillo JG, García-Tovar CG, Carrillo L, Quintero-Mora M, García-Vázquez SE, *et al.* Estudio de la actividad antifúngica de un extracto de propóleos de la abeja *Apis mellifera* proveniente del Estado de México. *Tecnol marcha*. 2008; 21 (1): 49-55.
- Lozina L, Acosta de Pérez O, Boehringer S, Teibler P. Acción del propóleos sobre levaduras (*Malassezia pachydermatis*) asociadas a otitis externas en caninos. *Acta Farm Bonaer*. 2006; 24(4): 560-563.
- Maidana JF. Características físicas del propóleos, en relación a su procedencia y origen vegetal. CEDIA-Santiago del Estero. Argentina. *Revista Ciencia y abejas*. 1997; 23:16-20.
- Maidana JF. Propóleos: características, composición, propiedades, elaboración de subproductos y control de calidad. Universidad Nacional de Santiago del Estero, Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Centro de Investigaciones Apícolas- CEDIA- Año: 2007.
- Maldonado L. Perfil de los propóleos argentinos. *Actas del Congreso Internacional de propóleos*. Buenos Aires. Argentina. 2000, 11- 12 pp.
- Marchionatto JB. Tratado de Fitopatología. Ediciones Librería del Colegio. Bs As. 1948; 212 pp.
- Martínez Galán, JP. Caracterización físico-química y evaluación de la Actividad antifúngica de propóleos Recolectados en el suroeste antioqueño. Tesis de Maestría. Universidad Nacional De Colombia. 2009.
- Martínez-Crovetto R. Esquema fitogeográfico de la provincia de Misiones. *Bonplandia*. 1963; 1: 171-215.
- Ministerio de Agricultura de Brasil-Apacame- Associação Paulista de Apicultores Criadores de Abelhas Melíferas Européias. Regulamentos técnicos para fixação de identidade e qualidade de própolis. *Revista Mensagem Doce*. 1999; 52(3):13-14.
- Nieva-Moreno MI, Isla MI, Cudmani NG, Vattuone MA, Sampietro AR. Proyección de actividad antibacteriana del propóleos de Amaicha del Valle (Tucumán, Argentina) J. *Ethnopharmacol*. 1999; 68(1-3): 97-102.}Noriega Salmón, V. 2014. Curso del Depto. De Enfermería E.U.E. “Casa Salud Valdecilla”, (visita febrero 2016). Universidad de Cantabria. 28 pp.
- Park YK, Paredes-Guzmán JF, Aguiar CL, SM Alencar SM, Fujiwara FY. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. *J Agric Food Chem*. 2004; 52:1100-1103.
- Peña RC. Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Cien Inv Agr*. 2008; 35(1): 17-26.
- Propóleos: características físicas en relación a la procedencia y origen vegetal. *Revista Vida Apícola*, N° 95, Mayo/Junio de 1999, Editorial La Estampa. Barcelona, España.
- Salamanca-Grosso G, Correa-Carvajal IL, Principal J. Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos. *Zootecnia Trop*. 2006; 25(2): 95-102.
- Sales A, Álvarez A, Areal MR, Maldonado L, Marchisio P, Rodríguez M, *et al.* The effect of different propolis harvest methods on its lead contents determined by ET AAS and UV- vis. *J Hazard Mater*. 2006; 137: 1352- 1356.
- Sánchez J, R Acevedo R. 2001. Propóleos de abejas (*Apis mellifera*) en el control de *Sclerotium cepivorum*, agente causal de la pudrición blanca del ajo. (Visita mayo 2009)

http://www.redpav.avepagro.org.ve/fitopato/v122/xvi_congreso.

Solórzano E, Maldonado L, Bedascarrasbure E, Vera N, Ordoñez R, Isla IM. Actividad antimicrobiana de extractos totales y fraccionados de propóleos de Catamarca, Argentina. Actas II Congreso Argentino de Apicultura. Mar del Plata. Agosto de 2008.

Sosa-López AA, Subovsky MJ, Maidana JF, González J, Castillo AE. Evaluación Preliminar de Compuestos Minerales de Propóleos de Distintos Orígenes. [CD-ROM]. Argentina: Actas de la XII Reunión de Comunicaciones Científicas y Técnicas. FCA.2002.

Tolosa L, Cañizares, E. 2002. Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. *Ars Pharmaceutica*, 43:1-2; 187-204, 2002.
