Vol. 12(2) – 2020
ISSN 2304-2907 (on line)

Steviana

Área del cerrado. Límite sur del Parque Nacional Cerro Corá. Amambay. Paraguay

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

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

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

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

La revista se encuentra indexada desde el 2012 al Catálogo de Latindex con Nº de Folio 21767.

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

Dra. Ana Gómez
Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica, CEDIC. Asunción-Paraguay

Dr. Jorge Alfonso
Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica, CEDIC. Asunción-Paraguay

MSc. Lidia Pérez de Molas
FCA. Universidad Nacional de Asunción, Paraguay. San Lorenzo-Paraguay

MSc. Danilo Fernández
FACEN. Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo-Paraguay

MSc. Marcelo Dujak
FACEN. Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo-Paraguay

Dra. Ana Ladio
Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INBIOMA). Bariloche-Argentina

MSc. Francisco Ferreira
FACEN. Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo-Paraguay

Dr. Christian Vogt
FACEN-Laboratorio de Recursos Vegetales. Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo-Paraguay

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCION

RECTORA
Prof. Dra. Zully Concepción Vera de Molinas

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DECANO
Prof. Lic. Constantino Nicolás Guefos K., MAE

CUERPO EDITORIAL

Editor
Bonifacia Benítez de Bertoni
(FACEN – UNA)

Co-editor
Pamela Marchi
María Vera Jiménez

Diseño y diagramación
Pamela Marchi
María Vera Jiménez

Fotografía de tapa
Área del cerrado. Límite sur del Parque Nacional Cerro Corá. Departamento de Amambay, Paraguay. Autor: Victoria Vázquez.

Revisión de escritos en Inglés
Nidia Beatriz Benítez Candia
(FACEN – UNA)

Comité Científico

María de Fátima Mereles H.
Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica – CEDIC, Paraguay

Gloria Yaluff
FACEN-UNA, Paraguay

Claudia Pereira S.
FACEN-UNA, Paraguay

Miguel Angel Martínez
FACEN-UNA, Paraguay

Christian Vogt P.
FACEN-UNA, Paraguay

Michelle Campi G.
FACEN-UNA, Paraguay

Karina Nuñez G.
FACEN-UNA, Paraguay

Revista Steviana: Indexada al Catálogo de Latindex, N° de folio 21767
DIRECCIÓN OFICIAL
Facultad de Ciencias Exáctas y Naturales-UNA
Telefono-fax: (595-21) 585 600
Dirección Postal: 1039
Campus Universitario, San Lorenzo-Paraguay
Página web: www.facen.una.py

Steviana, Vol. 12(2), 2020

CONTENIDO POR SECCIONES

Etnobotánica **5-30**	Conocimientos acerca del uso alimenticio de los frutos de *Cereus lanosus* (Cactaceae) Departamento de Cordillera, Paraguay *Pin, A.; López de Kochalka, N. E.; González, Y.; Britos, L.; Degen, R.*
Fitoquímica **31-54**	Análisis estructural de interacciones *in silico* de fitoconstituyentes de *Solanum americanum*, *Solanum guaraniticum* y *Solanum lycopersicum* con la proteína tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum* *Gayozo, E. & Rojas, L.*
Flora y Vegetación **55-69**	Diversidad de especies vegetales en bosques con distintos grados de perturbación en la Reserva Natural Itabó, Itaipú Binacional, Paraguay *Imas, H.; Silva, H.; Mereles, F.*
Nota breve **70-80**	Análisis computacional de la interacción *in silico* de la Agatisflavona con la región de trimerización de la proteína espícula (S) del SARS-CoV-2 *Gayozo, E.; Rojas, L.; López, M.*

Conocimientos acerca del uso alimenticio de los frutos de *Cereus lanosus* (F. Ritter) P.J. Braun (Cactaceae) Departamento de Cordillera, Paraguay

Pin, A.[1*]; López de Kochalka, N. E.[1]; González, Y.[2]; Britos, L.[2]; Degen, R.[2]

[1]Asociación Etnobotánica Paraguaya (AEPY), Capiatá, Paraguay
[2]Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Botánica, Herbario FCQ, San Lorenzo, Paraguay
[*]E-mail del autor: anapinf@gmail.com

Conocimientos acerca del uso alimenticio de los frutos de *Cereus lanosus* (F. Ritter) P.J. Braun (Cactaceae) Departamento de Cordillera, Paraguay. Entre junio y setiembre de 2016 se realizaron 111 encuestas a pobladores del Cerro Tobati, en el marco del Proyecto CONACYT 14-INV-205. Se utilizó el método "bola de nieve" y planilla de encuestas semiestructurada con el objetivo de indagar si el fruto del *C. lanosus* es conocido y consumido por los pobladores locales de las inmediaciones del recurso. Los pobladores en su mayoría (94,6 %) conocen al *C. lanosus*; la mitad de ellos (58,6 %) probó el fruto alguna vez y algunos opinaron sobre el sabor del fruto; la mayoría (68,4 %) mencionó que la colecta se realiza con la mano. Se presenta por primera vez información sobre el consumo y sabor de frutos de *C. lanosus*.
Palabras clave: *Cereus lanosus*, *C. paraguayensis*, especie endémica, frutos comestibles, etnobotánica, Cactaceae

Knowledge about the nutritional use of *Cereus lanosus* (F. Ritter) P.J. Braun (Cactaceae) fruits from Cordillera Department, Paraguay. Between June and September 2016, 111 surveys were carried out on residents of Cerro Tobati, within the framework of the CONACYT Project 14-INV-205. The "snowball" method and semi-structured survey form were used to investigate whether the fruit of *C. lanosus* is knowed and consumed by local people in the vicinity of the resource. The majority of the inhabitants (94.6%) know *C. lanosus*; half of them (58.6%) tasted the fruit sometime and some opined about the taste of the fruit; the majority (68.4%) mentioned that the collection is done by hand. The consumption of fruits and the taste of *C. lanosus* are reported for the first time.
Keywords: *Cereus lanosus*, *C. paraguayensis*, endemic species, eddible fruits, ethnobotany, Cactaceae

INTRODUCCIÓN

Más de 250 especies de cactáceas se registran como plantas aprovechadas por sus frutas, sean producto de cultivo o recolección; se destacan las Opuntias con gran número de representantes (Fouqué, 1972).

Entre las especies comestibles de Cereus se mencionan los frutos de *C. aethiops* Haw. (*C. caerulescens* Salm-Dyck) del semi-árido argentino y Sur del Brasil, el mexicano *C. cumengei* Web. y *C. hankeanus* F.A.C. Weber ex K. Schum. de Brasil (Fouqué, 1972); *C. forbesii* ("ucle") del Noreste y Noroeste argentino (Trevisson y Demaio, 2006; Arenas y Scarpa, 2007; Scarpa, 2012; Riat y Pochettino, 2014; Rosso y Scarpa, 2017) incluyendo el Suroeste de Pa-

Steviana, Vol. 12 (2), 2020 pp. 5 - 30
Original recibido el 27 de abril de 2019
Aceptado el 10 de mayo de 2020

raguay, zona de distribución de la etnia Chorote estudiada por Arenas y Scarpa; *Cereus jamacaru* y *C. hildmannianus*, de Brasil (Lorenzi *et al*., 2006; da Silva Andrade, 2008; Maranhâo Carneiro *et al*., 2016); *C. hexagonus*, de Venezuela (Fouqué, 1972; Hoyos, 1989); *C. peruvianus* (Fouqué, 1972; Mizrahi y Nerd, 1999) de Perú, Brasil hasta Argentina y el cual -de acuerdo a Mizrahi y Nerd (1999)- es de reciente domesticación con potencial de comercialización; *C. stenogonus* del Chaco paraguayo y argentino (Ragonese y Crovetto, 1947; Arenas, 1981, 1982 y 1983; López, 1987; Friesen, 2004); *C. uruguayanus* del Oeste y Noreste argentino (Trevisson y Demaio, 2006; Rosso y Scarpa, 2017). Frutos de *C. peruvianus* ("túna wasú") y *Cereus* sp. ("túna") son aprovechados por los guaraníes mbya de Misiones, Argentina (Martinez-Crovetto, 1968). Se mencionan frutos de "*Cereus* sp." consumidos por los Ayoreo del Chaco paraguayo (Schmeda-Hirchmann, 1994 y 1998) y otras 6 especies de *Cereus* de frutos comestibles se registran para Bolivia, incluyendo la zona chaqueña (Cárdenas, 1989). Estos frutos son ingeridos crudos, preferentemente, por la población local.

El consumo de frutos de *C. forbesii* ("cardón arbóreo"), *C. stenogonus* ("jakare ruguái") y *C. uruguayanus* ("cardón mesopotámico"), así como de *C. argentinensis* ("hachón") han hecho calificar a estas especies como plantas de "interés económico" en Argentina (Cantero *et al*., 2019).

El género Cereus Mill. cuenta entre 34 y 33 especies a nivel global (Anderson, 2001 y Hunt, 2016, respectivamente) y se distribuye desde el Sur de los Estados Unidos de América hasta la Argentina (Kiesling, 1984) incluyendo a Paraguay. De acuerdo a Zuloaga *et al*., (2019, on-line) se registran 9 especies de *Cereus* para la región del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay) de las cuales 3 se registran para Paraguay: *C. lanosus* (F.Ritter) P.J. Braun, *C. paraguayensis* K.Schum. y *C. stenogonus* K. Schum. En nuestro país también están presentes *C. forbesii* Otto ex C.F. Först., de acuerdo a otros autores (Esser, 1982; Kroenlein, 1992; Trevisson y Demaio, 2006; Trevison y Perea, 2009; Polini, 2013) y a materiales de herbario existentes.

En el trabajo de Peña-Chocarro y De Egea (2018) se considera a *C. lanosus* como sinónimo de *C. paraguayensis*. La denominación de "*Cereus lanosus*", necesita una revisión taxonómica (Pin y Rodríguez, 2015), ya que la correcta sería *C. paraguayensis* K. Schum. El nombre de *C. lanosus* se viene usando en publicaciones y en los herbarios (nacionales y extranjeros) desde hace unos 30 años. En el presente trabajo, se mantiene el nombre de *C. lanosus*.

En el 2010, durante los viajes de campo realizados por A. Pin y L. Rodríguez a los Departamentos de Cordillera (cerro Tobati), Paraguari y Concepción (Parque Nacional San Luis), se encontraron frutos maduros de *Cereus lanosus*, de los cuales se degustó la pulpa. Esta presentó las siguientes características: coloración blanca casi translúcida; suave, mucilaginosa; jugosa y levemente ácida, cuando el fruto está recién maduro (pericarpio color violeta), y cada vez menos jugosa pero más dulce y de textura esponjosa, cuando está maduro a sobre-

maduro (pericarpio de color rojo, naranja hasta amarillo según pasa el tiempo). En general, el sabor es parecido al kiwi (*Actinidia deliciosa*). El sabor fue apreciado por los colectores. Esta experiencia motivó a investigar el contenido nutricional del fruto de esta especie, lo que dio origen al **Proyecto CONACYT 14-INV-205**: "Potencial nutritivo de los frutos y caracterización ecológica de una especie nativa y endémica de Paraguay: *Cereus lanosus* (F. Ritter) P.J. Braun (CACTACEAE)", en cuyo marco se realizaron las encuestas etnobotánicas. Para el Proyecto también se consideraron los siguientes factores: la carencia de espinas en la superficie del fruto lo que facilita su consumo; la escasa información bibliográfica (botánica, ecológica, nutricional, etnobotánica) que aparentemente existe sobre dicha especie; así como su condición de nativa, silvestre y endémica de Paraguay. El endemismo fue mencionado por Peña Chocarro y De Egea (2018) y Zuloaga *et al*. (2019); también está presente en Brasil (Mato Grosso do Sul) (Eggli, 2002). Considerando lo dicho, este trabajo es una primera aproximación acerca del potencial alimenticio humano de esta especie nativa y endémica de Paraguay.

La ejecución del Proyecto estuvo a cargo de la Asociación Etnobotánica Paraguaya (AEPY) con la contrapartida de la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ/UNA). Se eligió el cerro Tobati -como sitio de estudio- por su cercanía al laboratorio de análisis de frutos, por la facilidad de acceso y por la seguridad de contar ahí con poblaciones de esta especie.

El objetivo de este trabajo fue indagar si los pobladores del Cerro Tobati conocen y les dan un uso alimenticio a los frutos de *Cereus lanosus*.

Este trabajo se basó en las siguientes hipótesis: el fruto del *C. lanosus* es consumido y apreciado por la población aledaña (Preguntas 2, 3 y 4), además de la población aledaña al recurso, hay otras personas fuera de esos barrios que conocen, consumen y/o aprovechan de alguna forma el fruto (pregunta 5), Los pobladores consumen y valoran el fruto por lo que tienen la costumbre de recolectarlo y almacenarlo para su consumo posterior (o fuera de su hábitat) (pregunta 6)

MATERIALES Y MÉTODO

Descripción de la especie

En relación a su biogeografía, *C. lanosus* crece en la Ecorregión de Pastizales, Sabanas y Matorrales Tropicales y Subtropicales, del reino Neotropical (Olson *et al*., 2001). En Paraguay, se lo ubica en las Ecorregiones (IV) Selva Central (principalmente), (V) Litoral Central y (I) Aquidabán, según la clasificación de Acevedo *et al*.(1990). De acuerdo a Dinerstein *et al*., (1995) citado por Ávila *et al*.(2018) ocupa las Ecorregiones (3) Chaco Húmedo (principalmente), (4) Cerrado y (5) Bosque Atlántico del Alto Paraná (en el límite Este, colindante con la del Chaco Húmedo) De acuerdo a Cioato (2016) se ubica también en la Ecorregión Chaco Húmedo (predominantemente) y en la del Cerrado. De acuerdo a la Autoridad Ambiental nacional ocupa las Ecorregiones (3) Chaco Húmedo, (6) Aquidabán, (8) Litoral Central y (9) Selva Central (Secretaría del Ambiente (Resolución Nº

614 /13).

C. lanosus crece principalmente en la zona central de la Región Oriental de Paraguay, en los Departamentos de Caaguazu, Caazapá, Central, Cordillera, Guairá y Paraguarí, y en Concepción (al Norte de dicha Región) (Pin y Rodríguez, 2015; Peña Chocarro y De Egea, 2018). Pin y Rodriguez (2005) lo citan también para los Departamentos Presidente Hayes y Boquerón (Chaco o Región Occidental) (Figura 1), aunque su presencia en Boquerón es dudosa.

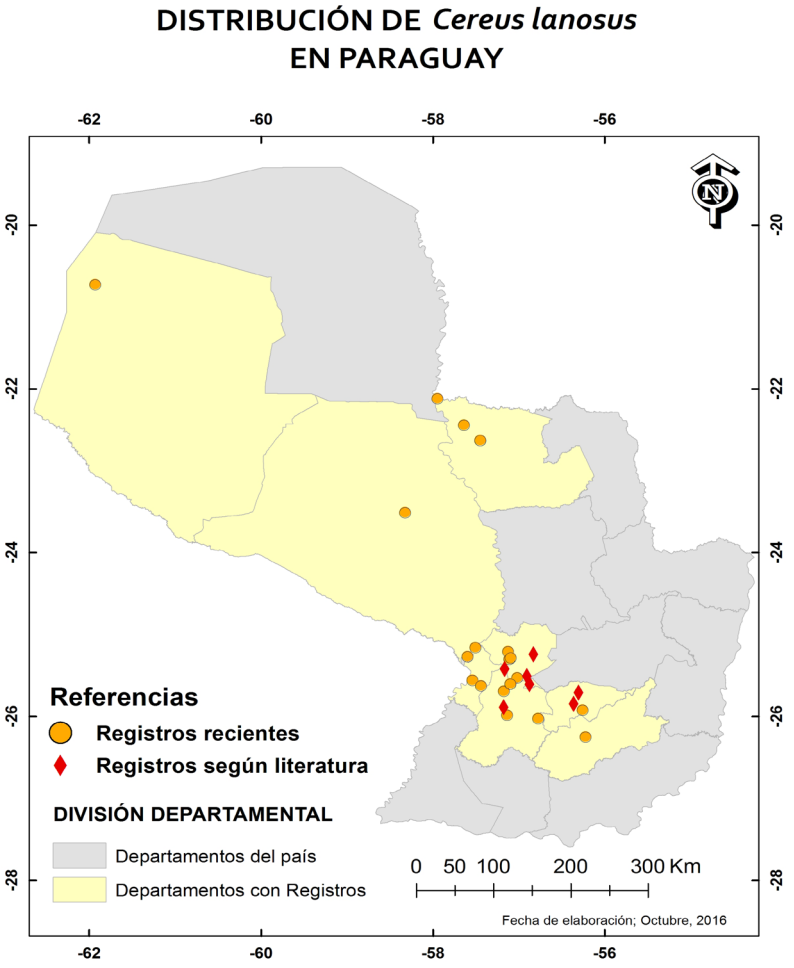


Figura 1. Presencia de *C. lanosus* en los Departamentos Boquerón (dudosa), Caazapá, Central, Concepción, Cordillera, Guairá, Paraguarí y Presidente Hayes. **Fuente:** Pin y Rodríguez (2015)

En el sitio del presente estudio, *C. lanosus* habita la cima del cerro, entre los 168 msm y 254 msm, sobre suelos rocosos relativamente poco profundos; prefiere sitios soleados, donde crece expuesto al sol rodeado de vegetación herbácea y arbustiva, aunque también dentro de bosquetes abiertos donde recibe buena iluminación (Pin *et al*., 2017 a y 2017 b). Esta formación geológica pertenece a la Cordillera de los Altos, la que se extiende entre los Departamentos Central, Cordillera y Paraguari; la misma es parte del grupo Caacupé, constituida esencialmente de areniscas que forman grandes afloramientos rocosos de forma redondeada (González Nuñez *et al*., 1998).

Las comunidades naturales y especies acompañantes a las que se asocia el *C. lanosus* en el cerro Tobati y mismo lugar de nuestro estudio, fueron previamente investigadas por Degen *et al.* (2018). Este cactus forma parte de comunidades herbáceas instaladas en sitios arenosos sobre suelos poco profundos, y comunidades arbustivas tipo matorral, ubicadas sobre sustrato con mayor cantidad de suelo acumulado, con aspecto de pequeño bosque achaparrado (especies arbóreas y arbustivas de aspecto tortuoso), con un promedio de 2 m. de altura. Estas comunidades son florísticamente semejantes al bosque que se instala en la ladera del cerro pero con menos variedad y con algunas especies de la Ecorregión del Cerrado.

En el sitio, *C. lanosus* tiene porte arbustivo (a veces arbóreo) de 1-2 m de altura en promedio (aunque puede alcanzar los 6 m en otros sitios); con 5-7 costillas y areolas llamativas: grandes, con abundante pilosidad blanquecina que lo caracteriza; espinas en tallos jóvenes: 5-8 radiales y 1 central más larga, de 1-1,5 cm long., castaño rojizas, punta clara, y en tallos maduros: 7 radiales y 3 centrales; sus flores son grandes, infundibuliformes, blancas, nocturnas, de hasta 25 cm long. y 16 cm diám.; el fruto es una es una baya ovada, de 5 (hasta 12) cm long. x 3,5 -5 cm diám., carnosos, de superficie lisa, glabra (sin espinas ni escamas); los frutos maduros por lo general tienen color violeta o morado, aunque en el proceso de madurez presentan gran variación: puede ir del violeta o morado, luego salmón o anaranjado, finalizando en amarillo; la cáscara es fina, se abre longitudinalmente una vez maduro, con corola persistente; la pulpa es blanca, con semillas muy pequeñas, oscuras, distribuidas en toda la pulpa (Pin y Rodríguez, 2015; Pin *et al*., 2017 a y 2017 b) (Figuras 2, 3, 4 y 5**)**.

En la zona de estudio también se ha registrado la presencia de *Cereus stenogonus* (Degen *et al.*, 2004), con la que podría confundirse la especie estudiada; sin embargo los pobladores que consumen el fruto de *C. lanosus* diferencian bien estas dos especies.

Selección del sitio de estudio

El lugar de nuestro estudio se denomina localmente “Pelito kue”, localizado en el cerro Tobati a 70 Km de Asunción, capital del país. Su población rural está organizada en Compañías, que a su vez se dividen en barrios, y dependen administrativamente del municipio de Tobati, localizado a 72 Km de Asunción. Estas Compañías están instaladas en las laderas, valles y partes de la cima

del cerro, entre los 120 y 200 m.s.n.m.; se encuentran separadas unas de otras. (Anexo 1). Los pobladores son vecinos que viven en el lugar desde varios años atrás; son residentes permanentes; pocos son los que llegaron hace uno o dos años. Durante las encuestas, la mayoría de los pobladores accedieron fácilmente a ser entrevistados.

En base a viajes previos de reconocimiento (2015) al Cerro Tobati (25º16'35,3" S, 57º05'20,1" W) (Departamento de Cordillera) se tenía claro que los sitios (estaciones) para estudios ecológicos y de cosecha de frutos del *C. lanosus* estarían en la cima del cerro.

Para las encuestas (2016), se identificaron las poblaciones ubicadas a los lados del camino que llevaban al cerro, desde la ruta a la cima. De acuerdo al tiempo con que se contaba y a accesibilidad a los sitios, se seleccionaron dos Compañías: Rosado y Potrero Zona, ésta última con sus barrios Santa Elena, Ñandejara Jesucristo, Poli Centro y Santa Lucía (Figura 6, Anexo 1).

Presentación del proyecto a la comunidad

Para este fin se elaboró un material divulgativo ilustrado (díptico), en castellano y guaraní, que sirvió para informar a la comunidad sobre el Proyecto y sus objetivos (Anexo 3) y obtener su colaboración. Este documento es la base del consentimiento informado, y se dejó en manos de cada poblador encuestado como testimonio del trabajo y forma de

Figuras 2 y 3. *C. lanosus* (Cerro Tobati). **1.** Porte arbustivo; a pleno sol. **2.** Fruto rojo, maduro. Fotos: Pin, 2017

Figuras 4 y 5. Frutos maduros de *C. lanosus*, abiertos y exponiendo las semillas en la pulpa blanca. **1.** Fruto amarillo. **2.** Fruto rojo. Fotos: Pin, 2017

contacto con los responsables del Proyecto.

Un punto analizado durante su elaboración fue cómo traducir al guaraní el término "cactus" de una forma genérica, para lo cual se consultó la enciclopedia de Gatti (1985); sin embargo, el concepto de cactáceas mencionado aquí se refiere mayormente a formas del género Opuntia, lo que no correspondía con el de Cereus. Finalmente, se decidió usar el término "tuna" como la gente conoce comúnmente a los cactus en nuestro país.

Selección del método de muestreo

Se aplicó parcialmente la metodología llamada "bola de nieve" o "snowball sampling" (Ochoa, 2015). Es una técnica de muestreo no probabilística en la que los primeros individuos seleccionados para ser entrevistados reclutan a nuevos participantes entre sus conocidos, y éstos a su vez, eligen a otros. El tamaño de la muestra va creciendo a medida que los individuos seleccionados invitan a participar a sus conocidos, es decir, funciona en cadena. Corresponde a un método cualitativo de investigación. Este tipo de muestreo resulta cuando el investigador se enfrenta a "poblaciones de baja incidencia e individuos de difícil acceso", como en el caso de estudio. El muestreo fue de tipo "lineal". A diferencia de la propuesta original, los pobladores encuestados se iban sumando naturalmente según se tenía acceso a ellos, siguiendo los caminos que recorrían las laderas del cerro y se acercaban a la cima; a medida que se ascendía o descendía, se trataba de cubrir todas las viviendas posibles a ambos costados del camino. Esto permitió incluir encuestados que vivían a diferentes distancias de la cima, donde se encontraba la especie estudiada.

Desarrollo de la encuesta: cuestionario y forma de trabajo

Se utilizó un formato semiestructurado, de elaboración propia, en castellano y guaraní (Anexo 4), donde se expusieron las preguntas relacionadas al presente trabajo y a otros puntos; se previeron espacios para anotar los comentarios de los encuestados. Al final del cuestionario se previó un apartado de "observaciones" por parte de los encuestadores quienes -al iniciar el trabajo- se aseguraban que el poblador conozca de qué especie se hablaba (pregunta 1), para lo cual se mostraron y compararon fotos de *C. lanosus* y de otras especies de cactus de la zona similares en su porte o tipo de fruto. Las encuestas se realizaron entre los meses de junio y setiembre del 2016, en seis viajes al sitio, completando 111 encuestados. Este periodo de tiempo no correspondió al de fructificación de la especie, dado que el mismo no se conocía con certeza.

Para cada viaje de encuesta se formó un equipo de 3-4 encuestadores, los cuales se volvían a dividir en dos grupos para abarcar mayor número de viviendas y mejor aprovechamiento de la jornada de trabajo. Los idiomas utilizados fueron el *castellano* y *guaraní*, según la necesidad y comodidad de los encuestados. Durante la visita a las casas, un encuestador realizaba las entrevistas mientras el otro rellenaba el cuestionario. Las horas de encuestas fueron entre las 08:00 – 11:00 a.m. y 14:00 – 16:00

p.m., para adaptarse al ritmo de actividad de la comunidad.

Inspirados en un trabajo de Arenas (1995) se incluyeron preguntas (6 y 7) relacionadas a la práctica –por parte de los pobladores- de colectar o cosechar el fruto, y a la forma en que éstos lo recogen de la planta.

Las preguntas relacionadas al consumo del *C. lanosus* fueron las siguientes:
1 ¿**Conoce usted estas plantas llamadas "cactus"?** / *¿Nde piko ei´kuaá ko'â tuna kuera?* (con muestra fotográfica)
2 ¿**Probó alguna vez su fruto?** / *¿Nde re'uva sapy´a pe tuna yva?*
¿Qué le pareció? / ¿Mbaeichapa he ndeve la tuna yva? (Comentarios)
3 Si no lo probó, ¿se animaría probarlo? / *¿Ha nde ejeanimá he´uva ko tuna yva?* ***(Se aclara que no es tóxico)***
¿Por qué NO? (Comentarios)
4 ¿**Hay personas de la comunidad que comen esta fruta?** / *¿Koa ko comunida pe oî la ho'uva ko tuna yva?*
¿Quiénes? *(Comentarios)*
5 ¿**Hay otras personas que no son de la comunidad y que vienen a comer los frutos?** / *¿Oî otro yvypora ndahaeiva koapegua ho'uva ko tuna yva?*
6 ¿**Hay gente de la comunidad que "junta" el fruto de esta planta?** /*Oî yvypora omono´ó a koa tuna yva?*
¿Por qué NO junta? ¿Mba'ere piko? (Comentarios)
7 ¿**Los pobladores, cómo arrancan (extraen) la fruta de esta planta?** / *¿Mba'eichapa o mono'ó hikuai koa tuna yva?*

La pregunta 4 había sido reformulada en la mitad del proceso; al principio se consultó: *¿Piensa que a otras personas -que no son de la comunidad- les pueden gustar comer los frutos "frescos"*?, explicando al encuestado el objetivo de fondo. En la pregunta 5 se usó el término "juntar" porque pareció el más adecuado.

Análisis de datos

Se contabilizaron todas las respuestas de las preguntas "cerradas" del cuestionario; las preguntas "abiertas" y los comentarios se cuantificaron en la medida de lo posible (cantidad de respuestas coincidentes /total de encuestados). Los datos de las planillas de encuestas fueron procesados con ayuda del programa Excel, creándose una base de datos para su análisis. Se ingresaron los datos de las encuestas en base al siguiente criterio: se dio valor "0" = cuando no hubo dato, y valor "1" = a respuesta obtenida, que podía ser positiva ("SI") o negativa ("NO"). Se utilizó el factorial fx para las sumas de las columnas con rangos categorizados (1) para hallar el total de respuestas. Finalmente se calculó el porcentaje (%) de respuestas con la siguiente fórmula para Excel = (Nº de respuestas/ Nº de encuestas realizadas)* 100.

En relación al sabor del fruto, se respondió principalmente en la pregunta 3, pero también en otras donde los encuestados hicieron comentarios al respecto. Se contabilizaron las respuestas para cada sabor y se obtuvieron los porcentajes en base al total de respuestas afirmativas sobre el consumo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se entrevistaron a 111 personas, casi todos mayores de edad (entre 19 y 82 años) y sólo 5 mujeres menores de

Potencial nutritivo de los frutos y caracterización ecológica de una especie nativa y endémica de Paraguay:

Cereus lanosus (F. Ritter) P.J. Braun (CACTACEAE)

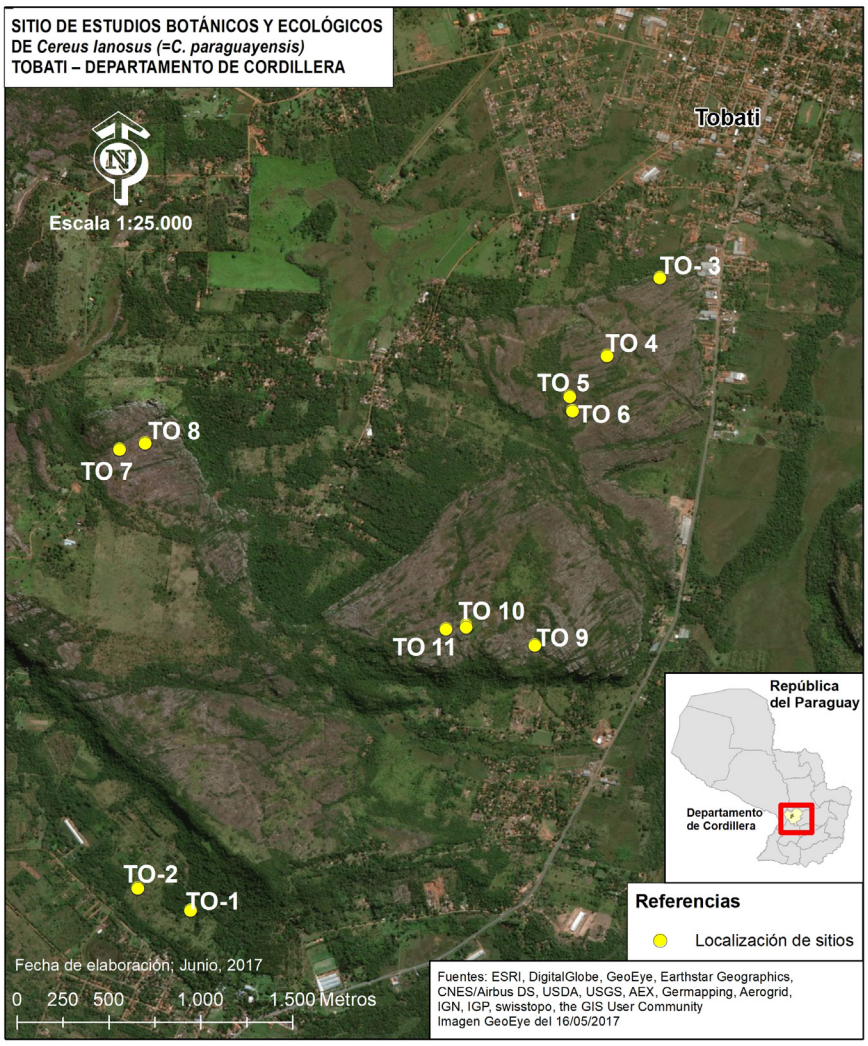


Figura 6. Imagen de ubicación general del sitio de estudio de *C. lanosus*. Los puntos "TO" (= Tobati) corresponden a los sitios de estudios botánicos alrededor de los cuales se realizaron las encuestas, en las Compañías Rosado y Potrero Zona A. **Fuente:** Elaboración propia

edad (estudiantes, de 12-16 años). De las N=77 (69 %) mujeres encuestadas, la mayoría (N=59; 77%) son "amas de casa", y realizan también artesanías y otras tareas como fabricación de escobas o ayudan a sus esposos a preparar plantas medicinales para la venta. El resto de las mujeres encuestadas (16%) se dedican a actividades diversas que le generan un poco de ingreso; otras 2 son estudiante y profesional universitarios (Anexo 2). Del total de N=34 (31%) de hombres encuestados, gran parte de ellos (N=13; 38%) son oleros (fabrican ladrillos); dos de ellos muy mayores (entre 80-82 años) y ya no trabajan.

La olería es el rubro remunerado en Tobati. Otros se dedican a la agricultura, a la recolección y venta de plantas medicinales, fabricación y venta de artesanías, u otras actividades diversas que generan ingresos **(**Anexo 2**)**. El trabajo de artesanía incluye la recolección de materiales para la fabricación de muebles, o elaboración de centros de mesa para fiestas (extraen lianas, musgos, líquenes y helechos, a veces tacuarillas). Los extraen de la cima del cerro y alrededores (laderas y valles boscosos). La recolección de plantas medicinales y materiales para artesanía son una de las principales actividades económicas de la mayoría de las personas encuestadas. La mayoría de las familias encuestadas (80 %) viven de la venta de plantas medicinales en sus barrios y en comunidades vecinas.

Las olerías -instaladas en la base del cerro y toda la región circundante a la ciudad de Tobati- se constituyen en factores deteriorantes del ambiente, dado que utilizan mucha madera proveniente de varios puntos del país- para calentar los hornos.

Reconocimiento de la especie

La pregunta 1 (*¿Conoce usted estas plantas llamadas "cactus"?*) demostró que el 94,6 % de los encuestados identifica bien al *C. lanosus*, en comparación a otras especies de cactus con los que comparte el hábitat.

El conocimiento de este recurso está muy relacionado a la actividad que realizan los pobladores en la cima del cerro y sus alrededores, aproximadamente entre los 170-250 m.s.n.m, conde crece dicha especie. Los que frecuentan el sitio por algún motivo –vivan cerca o lejos- son los que conocen al *C. lanosus*. También se percibió que cuando la vivienda de los pobladores está alejada de la cima del cerro, disminuye el conocimiento sobre el recurso.

Aunque *C. lanosus* tiene un aspecto similar a *C. stenogonus* cuando desarrolla porte arborescente, esto no fue motivo de confusión por parte de los pobladores, dado que la especie en estudio se localiza casi exclusivamente en la cima y ellos lo identificaban con precisión.

Consumo del fruto del *C. lanosus* y su apreciación

Este punto se refiere a las preguntas 2 (¿Probó alguna vez su fruto?, ¿Qué le pareció?), 3 (¿Si no lo probó, se animaría probarlo?) y 4 (¿Hay personas de la comunidad que comen esta fruta?).

En relación a la pregunta 2, el 58,6 % de los encuestados mencionó que come o comió alguna vez el fruto del cactus; el 45,9 % mencionó que lo probó "maduro"; ninguno lo consumió en estado verde. Del total de encuestados que pro-

bó el fruto (N= 65) el 56% destaca que es "rico", "muy rico", "delicioso" o que le gustó. Uno de los pobladores expresó que "comen las criaturas, la gente adulta, los vecinos, todos comen".

La pregunta ¿"Qué le pareció" el fruto? no estaba muy clara. Entre los que sí probaron el fruto, algunos respondieron en relación al sabor, otros a su aceptación en general y otros expresaron la relación entre el color y el estado de madurez del fruto. Lo relacionado al sabor será tratado más adelante.

Esta especie se podría comparar con algunas especies de Cereus con frutos "muy apreciados por la población" como *C. jamacaru*, en el nordeste brasilero (da Silva Andrade, 2008) y *C. hildmannianus*, en el sur del Brasil (Maranhâo Carneiro *et al*., 2016).

El consumo y aceptación del fruto de *C. lanosus* por los niños fue mencionada por el 30 % (N=33) de los encuestados; cuatro de ellos comentaron que les gusta mucho. Los niños suelen ser los principales consumidores de frutos silvestres, en particular si aquellos se encuentran a su alcance (Martinez-Crovetto, 1968) como ocurre en el cerro Tobati. Esta práctica forma parte de su temprana experiencia con los recursos naturales de su entorno (Dujak *et al.*, 2015).

En relación a la pregunta 3, aquellos que nunca probaron dicho fruto (41,4 %) es porque "no les gusta", le tienen miedo, o no les interesa. De las cuatro personas que expresaron "miedo", algunas mencionaron "que puede tener veneno", "por no saber sus propiedades químicas" y "por si le hace daño". Entre otros motivos expresados de por qué no probaría, se mencionó: porque es "pegajoso".

De los que nunca lo probaron, el 38,7% *sí se animaría* a hacerlo; el 18,1 % *no se animaría*; un 9,9 % *no sabe* si se animaría, y el 33,3 % *no lo probaría*.

El 40% de la población encuestada no consume frutos de *C. lanosus* y no hay mucha predisposición por parte de ésta a probarlos. De éstos encuestados, la cantidad de personas que no lo probaría (*no se animaría*, *no sabe* si se animaría o *no lo haría*) es mayor (61,3%) que el que *sí lo haría*. Cabe destacar que algunos encuestados de avanzada edad que no comen el fruto, es porque ya les dificulta ir al cerro, o porque están enfermos en algunos casos. Por lo tanto, respondieron que no lo consumen.

En relación a la pregunta 4 -si conocen de otras personas de su comunidad que consumen el fruto- el 57,7% de los encuestados dice que *sí conoce* personas que lo comen; el 26,1 % menciona que *no conoce*; y el 16,2 % *no sabe* si hay otras personas de su comunidad que comen dicho fruto.

Las respuestas muestran que el fruto del *C. lanosus* es consumido por más de la mitad de los encuestados, con lo que se confirma la hipótesis 1: El fruto de *C. lanosus* es consumido por pobladores del Cerro Tobati y apreciado por la mayoría que lo probó.

Consumo del fruto por otras personas que no son de esa comunidad

Este punto se refiere a la pregunta 5 (*¿Hay otras personas que no son de la comunidad y que vienen a comer los frutos?*) con la cual se quiso indagar si –además de la población local- otra gente conoce y aprovecha el fruto de este cactus, lo que nos indicaría que el mismo es

aprovechado por otras personas, además de la población aledaña al recurso.

El 39% de los encuestados respondió que sí hay gente de otras comunidades o de otros sitios que vienen al cerro y comen el fruto del *C. lanosus*; el 29% "piensa" o "cree" que no vienen a comerlo; otro 40% *no sabe*; el 1% respondió que *puede ser* que les guste a otras personas. El 2% de los encuestados no respondió. Al decir de los pobladores, el cerro Tobati es frecuentemente visitado por pobladores de diversos lugares del país, en diferentes épocas del año.

Casi el 70% de los encuestados desconoce que -personas ajenas a la comunidad- lleguen al cerro y consuman el fruto del *C. lanosus*. Las respuestas en este punto pueden ser poco consistentes, considerando que la pregunta fue ajustada durante el proceso, como se mencionó anteriormente. En principio, indicarían que hay poco conocimiento -o existen dudas- por parte de los encuestados de que a otra gente le pueda gustar comerlos. Esto se debe a que los lugareños generalmente no ven que los visitantes coman en el cerro. Además, indican como un posible motivo que "las frutas no son abundantes", posiblemente refiriéndose a su corto periodo de fructificación y maduración, como fue observado posteriormente en el campo, o la baja cantidad de frutos disponibles (baja fructificación) en cada temporada. Entre los visitantes externos se mencionaron a "turistas" y a "un profesor y estudiantes que vienen de Asunción para ir al cerro". De acuerdo a lo expuesto, la hipótesis 2 no pudo ser confirmada a cabalidad.

Forma de aprovechamiento del fruto

En relación a la pregunta 6 (*¿Hay gente de la comunidad que "junta" el fruto de esta planta?*), el 62% de los encuestados mencionó que *no* hay gente que "junta" los frutos del *C. lanosus*; otro 25% mencionó que sí hay quienes lo hacen, y otro 24% *no lo sabe*.

Esta consulta intentó saber si había otra forma de usar el recurso, además de consumirlo directamente *in situ*; por ello se preguntó también si se lo "cosechaba" o "recolectaba". Aunque no todos parecían entender la pregunta, se consiguió averiguar lo que se quería: los frutos de *C lanosus* por lo general- no se cosechan para llevar a la vivienda, sino que en su mayor parte lo consumen directamente en el cerro, como fruta fresca (no procesada), obtenida directamente de la planta.

La arrancan durante los recorridos que realizan cuando van a buscar leña o a llevar su ganado, o a realizar otras actividades. Lo consumen "o topâro" (si lo "encuentran") "porque tiene su época". Esta forma de consumo "al paso" era similar a la de los nativos del antiguo México en relación al consumo de "nopal", como fue comentada por Gonzalo Fernández de Oviedo en su Historia general y Natural de la Indias (1535); de acuerdo éste relato, los nativos lo hacían "caminando é comiendo esta fructa", donde la época de consumo les dura "mes y medio o dos meses" (Bravo, H., 2002). También era similar al consumo del nopal por los Californios, según lo expuesto por Francisco Javier Clavijero (1789) en su Historia de la Antigua Baja California: "cogido el fruto, estando maduro…", "le mondan para comerle;

y de ésta forma van cosechando y comiendo…" (Bravo, 2002). La colecta y consumo ocasional de frutas silvestres se reporta también para los guaraníes mby'a de Misiones, Argentina (Martinez-Crovetto, 1968) y de Itapua, Paraguay (Dujak *et al*., 2015). De acuerdo a éstos autores, esa práctica les ayuda a sobrellevar las largas recorridas que realizan mientras desarrollan sus actividades principales -o visitas a otras comunidades- por lo que la misma representa una actividad secundaria.

Los pobladores mencionan que el fruto "tiene su época" en que se lo encuentra, lo cual se pudo comprobar en el campo, ya que tiene un corto periodo de fructificación (2-3 meses) y el proceso de maduración es rápido (Pin *et al*., 2018 a y b) por lo que se explica el aprovechamiento puntual *in situ*. Además, las aves lo consumen rápidamente devorando su pulpa, compitiendo con las personas que puedan encontrarlo. El fruto es cosechado en forma esporádica, ocasional, tanto por hombres, mujeres y niños.

Arenas (1982) menciona sobre el aprovechamiento de frutos de algunas Cactáceas (*Monvillea cavendishii*, *Harrisia bonplandii* y algunas especies de Opuntia) por la etnia Maka del Chaco: "se consumen en cualquier momento", lo que coincide con *C. lanosus*; sin embargo también menciona que se "recolectan en cantidad apreciable", lo que no ocurre en este caso.

Lo mencionado descarta la 3ª hipótesis planteada; los pobladores no tienen la costumbre de cosecharlo y almacenarlo para su consumo posterior.

Forma de colecta o extracción del fruto

En relación a la pregunta 7 (cómo arrancan (extraen) la fruta de esta planta?), el 68,4 % de los encuestados la realiza en forma manual cuidando de no dañarse con las espinas, y el 6,3 % de ellos utiliza herramientas de tipo cortante (machete, cuchillo). También se mencionó el uso ganchos (varas de madera con alambre en el extremo en forma de gancho). Otro grupo de encuestados (18,9 %) No sabe cómo se colecta este fruto; no identifican una forma determinada o no saben cómo se obtiene porque no lo consumen.

De acuerdo a la exposición de los encuestados, la extracción del fruto de la planta se realiza de forma muy sencilla, con el mínimo empleo de herramientas, dado que este fruto carece de espinas y sólo hay que cuidarse de aquellas presentes en el tallo. Esto podemos comparar con el aprovechamiento del Nopal por los "californios", como relata Francisco Javier Clavijero (1789) citado anteriormente, el cual se realizaba con la ayuda de "una vara o caña" con gancho de hueso "para desprender el fruto de la planta…". La presencia o ausencia de espinas en el fruto de los cactus es un aspecto importante al momento de manipularlos. Los encuestados no mencionaron que lo colectan del suelo, sino que lo cosechan de la planta; esto se debe, en parte, a que el fruto no cae fácilmente al suelo estando maduro (e incluso abierto), sino luego de ser consumido por las aves: vacío y seco. Se desconoce si los frutos maduros caídos al suelo por acción mecánica (roce de animales, fuertes lluvias u otras causas) sean colectados y

consumidos por los pobladores.

Formas de consumo y aprovechamiento del fruto

Este apartado recoge los comentarios de los encuestados relacionados a la forma de consumo del fruto del *C. lanosus*, que fueron expuestos en el marco de las preguntas anteriores. De acuerdo a ello, se lo ingiere como fruta fresca, en estado *maduro*; se consume la pulpa, eliminando la cáscara; el fruto se abre con la mano o con ayuda de algún elemento cortante. No se acostumbra a procesar el fruto para su consumo directo o posterior, aunque dos encuestados mencionaron que se hace jugo. Tampoco se lo guarda o conserva, ni se lo comercializa. *La dehiscencia* o apertura del fruto, durante el proceso de madurez, podría representar un obstáculo para el almacenamiento, ya que se favorece la contaminación por agentes externos y el consumo por animales (sobre todo estando por la planta). Sin embargo, al igual que *C. jamacaru* (Buxbaum, 1953) la dehiscencia no parece presentar problema en poblaciones manejadas.

El consumo en forma cruda, como fruta fresca, parece ser una constante en los frutos de *Cereus* (Fouqué, A. 1972; López *et al*., 1987; Hoyos, J. 1989; Friesen, 2004; Lorenzi *et al*., 2006), como ocurre con otras Cactaceae de frutos carnosos. Esta forma de consumo se registra también en varias etnias aborígenes como los guaraní-mby'a (Martinez-Crovetto, 1968), lengua-maskoy (Arenas, 1981), maka (Arenas, 1982), ayoreo (Schmeda-Hirschmann, 1994 y 1998) y chorote (Arenas y Scarpa, 2007).

Algunos pobladores expresaron que "los frutos rojos son más maduros, más dulces", y los amarillos, "más agrios" (Anexo 4). El sabor acidulado fue comprobado por los investigadores en los frutos verde-amarillentos o verde-rosados, y el sabor más dulce, en frutos rosados, en ambos casos antes de su dehiscencia. *La madurez del fruto* fue estudiada en laboratorio como parte del Proyecto general.

Por otro lado, algunos comentaron que "es muy dulce; antes que se rompa". Los frutos abiertos encontrados en el campo eran de cáscara amarilla o rosada, aunque también se encontraron ya abiertos de color verde-amarillento o verde-rosado. No podemos afirmar que esta apertura natural indique la madurez del fruto. Un poblador comentó que "un fruto semimaduro se puede hacer madurar en un sitio oscuro, en primavera y verano".

De acuerdo a lo observado en campo- y como ya se mencionó anteriormente- el color del fruto en proceso de maduración presenta varias coloraciones, por lo que sería interesante conocer la relación entre el estado de madurez más aceptado por la población y la coloración correspondiente.

El sabor del fruto y características organolépticas

Estos aspectos fueron expuestos como parte de la pregunta 2 ("qué le pareció?") y como comentarios a otras preguntas realizadas; estos últimos pueden verse en el Anexo 5.

De los encuestados que probaron el fruto y dieron su parecer sobre el mismo (N= 84; 76% del total), algunos respondieron específicamente sobre el "tipo" de sabor: el 28 % respondió que el fruto es

"dulce" ("he´ê"), "medio dulce" o "muy dulce" ("he´ê asy"); otros mencionaron sabores "agrio" ("hái") (2 %), "agri-dulce" (3 %), o que "no es dulce" o "no es muy dulce" (6 %); y dos de ellos (2%) compararon el sabor con el color: indicando que los *rojos* son más dulces y los *amarillos* más agrios o agridulces. Algunos mencionan que tiene sabor a "kiwi", que "se parece a mburucuya", o que es "similar a una manzana" o a la "guayaba", aunque esto último podría referirse a su forma. Otros (2%) simplemente mencionaron que el fruto "no tiene tanto sabor" o "no tiene sabor raro".

La preferencia del *sabor* es muy personal, por ello algunos dicen que es "rico" y otros que no lo es. No quedó muy clara la relación entre el sabor y el estado de madurez (no había preguntas precisas para este punto) aunque se notó cierta preferencia por frutos de color rojo (Anexo 3).

En relación a la *textura de la pulpa,* los pobladores mencionaron que la pulpa es: gomosa, "I aysy", "I apovô", pegajosa, lo cual coincide con lo observado por los autores. Otra persona mencionó que es "adobativa". También mencionaron que "entre las semillitas parece que tiene espuma", "la pulpa explota en la boca; es como ese dulce-esponja que se compra", lo cual se comprobó principalmente en frutos sobremaduros, abiertos (parecido a la manzana de pulpa azucarada). Esto contrasta con la textura "pegajosa" y "jugosa" de su pulpa cuando el fruto está maduro y cerrado.

El sabor del fruto de *C. lanosus* se destaca por ser agradable en comparación con el de *C. forbesii* que "no tiene mucho sabor" (Friesen, 2004). Otra mención de sabor para frutos maduros de *Cereus* sp. es su parecido a "chirimoya (*Annona reticulata*)" (Schmeda-Hirchmann, 1994). Para los frutos de *C. stenogonus* -especie muy común en nuestro país, que es aprovechada por pobladores aborígenes del Chaco y campesinos paraguayos (Arenas, 1981 y 1983; López, 1987; Friesen, 2004)- no se menciona aspectos del sabor.

CONCLUSIONES

Se confirma que el fruto de *C. lanosus* es conocido y consumido por los pobladores del cerro Tobati, particularmente por aquellos que viven cerca del recurso y –excepcionalmente- por personas que frecuentan el sitio por motivos puntuales. El aprovechamiento de este fruto -como alimento- es una actividad esporádica de la población local, cuando lo encuentran, en sus viajes al cerro (entre los 170-250 m.s.n.m. aprox.) donde crece dicha especie; sin relevancia para su economía actual. El fruto se consume en el campo, crudo, como fruta fresca. La mitad de los encuestados destaca que es "rico". No es una fruta que se busca y se cosecha en forma expresa, como lo hacen con otros recursos naturales de los alrededores (leña, plantas medicinales). La extracción del fruto de la planta se realiza manualmente, en su mayor parte; a veces ayudado de alguna herramienta cortante como el machete.

Se reportan sabores "dulces", "agrios" y "agri-dulces". El fruto presenta textura pegajosa, gomosa, "I aysy", "I apovô".

Este estudio es el primero que reporta sobre el consumo humano y el sabor del

fruto de *Cereus lanosus* en Paraguay.

A fin de ampliar el conocimiento sobre el aprovechamiento actual del fruto de *C. lanosus* por poblaciones aledañas al recurso, y sobre su posible utilización por otros sectores de la sociedad (lo que podría incluir su producción y comercialización) se sugieren encaminar nuevas investigaciones en base a los siguientes interrogantes: ¿Por qué los pobladores que consumen el fruto no lo cosechan para almacenarlos o consumirlos en sus viviendas, preferentemente?, ¿Los que consumen el fruto, por qué no lo cultivan en sus patios como "frutal" para un acceso más fácil al recurso?, ¿Afecta al ecosistema el consumo del fruto por la población local, dado que es una especie endémica?, ¿A qué se debe que algunos pobladores consumen el fruto y otros no se animan a probarlo?, indagar sobre las posibilidades de domesticación de la especie *C. lanosus* y los beneficios que podría brindar a las poblaciones locales, y ampliar estudios sobre el estado de madurez fisiológica y de madurez de consumo (u organoléptica)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson, E. (2001). The Cactus Family. Timber Press. Portland. Oregon.

Arenas, P. (1981). Etnobotánica Lengua-Maskoy. Buenos Aires, Argentina. Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura. 358 pp.

Arenas, P. (1982). Recolección y agricultura entre los indígenas Maka del Chaco Boreal. Parodiana 1(2): 171-243.

Arenas, P. (1983). Nombres y usos de las plantas usadas por los indígenas Maka del Chaco Boreal. Parodiana 2(2):131-229.

Arenas, P. (1995). Encuesta etnobotánica aplicada a indígenas del Gran Chaco". En: Hacia una nueva carta étnica del Gran Chaco, VI: 161-178. Centro del Hombre Antiguo Chaqueño, Las Lomitas, Argentina.

Arenas, P. & G. Scarpa. (2007). Edible wild plants of the Chorote Indians, Gran Chaco, Argentina. Botanical Journal of the Linnean Society, 153: 73–85.

Batista Dubeux Jr., J.C., M. V. Ferreira dos Santos, M. Cavalcante, y D. Cordeiro dos Santos. (2013). Potencial da Palma forrageira na América do Sul. CACTUSNET Newletter. Special Issue (13): 13-18. Santiago del Estero, Argentina.

Braun, P. J. (1988). On the taxonomy of Brazilian Cereeae (Cactaceae). Bradleya 6: 85-99.

Bravo, H. (2002). Pencas de Antaño". En Artes de México –Revista Libro 59: 8-15. 1ª Edición, México.

Buxbaum, F. (1953). Morphology of Cacti. Section III. Fruits and Seeds: 171-223. Abbey Garden Press. Pasadena, California.

Cantero J. J., G.O. Núñez, G. Bernardello, A. Amuchástegui, J. Mulko, P. Brandolín, M. V. Palchetti, J. Iparraguirre, N. Virginil y L. A. Espinar. (2019). Las plantas de interés económico en Argentina. UniRío. Río Cuarto, Argentina.

Chodat, R. y E. Hassler. (1903). Cac-

taceae. En: Bulletin de l'erbier Boissier. Seconde Serie, Nº 1. En: Plantae Hasslerianae. Enumération des plantes recoltées au Paraguay (de 1885 à 1902) Université de Genève- Institut de Botanique. Deuxième Partie. Genève, Suisse.

Cioato, M.(ed.). (2016). Ecorregiones del Paraguay - Definición de prioridades en conservación. Versión I (mayo 2016). Instituto LIFE (Lasting Initiative por Earth).

Degen R., A. Pin, L. Britos y Y. González. (2018). Especies acompañantes de Cereus lanosus (Ritter) P.J. Braun (Cactaceae) en el cerro Tobati, Departamento Cordillera, Paraguay. Rojasiana 17 (1): 63-72.

Degen, R., E. Zardini y I. Basualdo. (2004). Catálogo de la flora vascular de la meseta Ybytu Silla Serranía de Tobati, Departamento de Cordillera, Paraguay. Rojasiana 6(1):7-42.

Dujak, M., M.S. Ferrucci, M. Vera Jiménez, J. Pineda, E. Chaparro y M. Brítez. (2015). Registros sobre las especies vegetales alimenticias utilizadas por dos comunidades indígenas Mbyá - Guaraní de la Reserva para Parque Nacional San Rafael, Itapúa – Paraguay. Steviana, 7:25-47

Eggli, U., M. Muñoz Schick & B. Leuenberger. (1995). Cactaceae of South America: The Ritter Collections. Englera 16: 1-646.

Eggli, U. (2002). Synopsis of the Cactaceae of Mato Grosso, Brazil. Haseltonia, Nº 9: 146-166. Cactus and Succulent Society of America. United States of America.

Esquivel, P. (2004). Los frutos de las cactáceas y su potencial como materia prima. Agronomía Mesoamericana 15(2):215-219.

Esser, G. (1982). Vegetationsgliederung und Kakteenvegetation von Paraguay. Trop. Subtrop. Pflanzenw. 38: 1-471.

Da Silva Andrade, C. T. (2008). Cactos úteis na Bahia. Editora USEB. Pelotas, RS. Brasil.

Fouqué, A. (1972). Espèces fruitières d'Amèrique Tropicale. Institut Français de recherches fruitières outre-mer (IFAC).

Friesen, V. (2004). Urunde'y schlorrekaktus pehen: Una guía para plantas leñosas del Chaco /Ein feldführer für Chacogehölze. Iniciativa para la Investigación y Transferencia de Tecnología Agraria (INTTAS). Loma Plata.

Gatti, C. (1985). Enciclopedia Guaraní - Castellano de Ciencias Naturales y Conocimientos Paraguayos. Arte Nuevo, editores. Asunción. Paraguay.

González Nuñez, Ma.E., W. Bartel, L. Lahner, y F. Wiens. (1998). Mapa Geológico de la República del Paraguay. Escala 1:100.00. Hoja Paraguarí 5469. Texto Explicativo. Dirección de Recursos Minerales (MOPC). Instituto Federal de Geociencias y Recursos Naturales (BGR).

Hessen, A. J. y A. Lenin Téllez N. (1995). ¡La pitahaya se abre paso!. Agricultura de las Américas 44(2): 6-10.

Hoyos, J. (1989). Árboles frutales en Ve-

nezuela (nativos y exóticos). Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Monografía Nº 36: 67-81. Caracas. Venezuela.

Hunt, D., N. P. Taylor, & C. Charles. (2006).The new Cactus Lexicon. Milborne Port.

Hunt, D. (2016). Cactaceae Checklist. CITES. Third edition compiled by David Hunt. Royal Botanic Gardens Kew & International Organization for Succulent Plant Study. 175 pp.

Kiesling, R. (1984). Cactaceae. En: Hunziker, A. (ed). Los Géneros de Fanerógamas de Argentina. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 3(1-4): 85-92.

Kiesling, R. (2013). Historia de la Opuntia ficus-indica. CACTUSNET Newletter. Special Issue (13): 13-18.

Kroenlein, M. (1992). Moitié brousse, moitié jardin, le Paraguay. (Continuación). Succulentes (France) 15e Année, Nº4.

López, J. A. , E.L. Little Jr., G. Ritz, J. Rombold y W. Hahn. (1987). Árboles Comunes del Paraguay Ñande Yvyra Mata Kuera. Cuerpo de Paz. Asunción 425pp.

López, N. (2016) (inédito). Informe final de análisis de encuestas etnobotánicas. Proyecto CONACYT 14-INV-205: Potencial nutritivo de los frutos y caracterización ecológica de una especie nativa y endémica de Paraguay: Cereus lanosus (F. Ritter) P.J. Braun (Cactaceae). Asociación Etnobotánica Paraguaya (AEPY) - Facultad de Ciencias Químicas (FCQ / UNA). Asunción.

Lorenzi, H., L. Bacher, M. Lacerda y S. Sartori. (2006). Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas (de consumo in natura). Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. San Pablo. Brasil

Maranhâo Carneiro, A., R., Farías-Singer, R. Aranha Ramos y A. Delmo Nilson. (2016). Cactos do Rio Grande do Sul. Fundaçâo Zoobotânica. Projeto RS Biodiversidade. Porto Alegre, Brasil. 224 pp.

Martinez-Crovetto, R. (1968). La alimentación entre los indios guaraníes de Misiones, República Argentina. Etnobiológica, 4: 1-24.

Masulli, B., Aquino, A. L., Gamarra, I., Areco, F., Mereles, F., Rossato, V., Sottoli, S., y V. Vera. (1996). El rol de la mujer en la utilización de los recursos naturales en el Paraguay: un enfoque multidisciplinario. Subsecretaría de Recursos Naturales y Medio Ambiente / MAG y Agencia de Cooperación Alemana (GTZ). Asunción.

Ochoa, C. (2015). Muestreo no probabilístico por bola de nieve. http://www.netquest.com/blog/es/muestreo-bola-nieve/.

Ochoa, M. J. (2013). Mancha negra "Pseudocercospora Opuntia": una importante enfermedad en plantaciones de Opuntias (tunas) para fruta, forraje y nopalitos. CACTUSNET Newletter. Special Issue (13): 63-72.

Olson, D.; E. Dinerstein, E. Wikramanayake, N. Burgess, G. Powell, E. Underwood, J. D'Amico, I. Itoua, H. Strand, J. Morrison, C. Louc-

ks, T. Allnutt, T. Ricketts, Y. Kura, J. Lamoreux, W. Wettengel, P. Hedao & K. Kassem. (2001). Terrestrial Ecoregions of the World: A new map of life on earth. BioScience, Vol. 51(11).

Peña Chocarro, M. & J. De Egea. (2018). Checklist of the endemic vascular plants of Paraguay. Phytotaxa 384 (1): 001–074

Pin, A. y J. Simon. (2004). Guía Ilustrada de los Cactus del Paraguay. SEAM/PNUD-GEF y Universidad de Barcelona/Grupo GREB. Asunción: Zamphirópolos S.A.

Pin, A. y L. Rodríguez. (2015). *Cereus lanosus* (Ritter) P.J. Braun (Cactaceae): descripción botánica y distribución ampliados de una especie endémica. Rojasiana 14(2): 9-26.

Pin, A.; R. Degen; L. Britos y Y. González. (2017)a (inéd.). Descripción ampliada de la especie. Informe botánico: mayo/2016 - mayo/2017. Proyecto CONACYT-PROCIENCIA 14-INV-205. Asunción.

Pin, A.; R. Degen; L. Britos y Y. González. (2017)b (inéd.). Descripción del fruto. Informe botánico: mayo/2016 - mayo/2017. Proyecto CONACYT-PROCIENCIA 14-INV-205. Asunción.

Pin, A.; R. Degen; L. Britos, Y. González, N. López, C. Aguilar y F. Piris da Motta. (2018) a (inéd.). Descripción ampliada de la especie. Informe botánico: diciembre/2017 a marzo/2018. Proyecto CONACYT-PROCIENCIA 14-INV-205. Asunción.

Pin, A., S. Caballero, L. Wiszovaty, P. Piris y R. Degen. (2018) b (inéd.). Potencial nutritivo de los frutos y caracterización ecológica de una especie nativa y endémica de Paraguay: Cereus lanosus (F. Ritter) P.J. Braun (Cactaceae). Informe Técnico Final. Proyecto CONACYT 14-INV-205. Asociación Etnobotánica Paraguaya (AEPY) - Facultad de Ciencias Químicas (FCQ / UNA). Asunción.

Polini, G. (2013). Comer del Monte, Plantas útiles y comestibles del Paraguay – Región Chaco Central. 254 pág.

Ragonese, A. y R. Martínez Crovetto. (1947). Plantas indígenas de la Argentina con frutos o semillas comestibles. Revista de Investigaciones Agrícolas: 1 (3): 147-216. Argentina.

Riat, P. y M.L. Pochettino. (2014) ¿Para usar o para eliminar? El uso local del Monte Santiagueño (Argentina) y el avance de la agricultura industrial. Zonas Aridas, 15(1):68-91.

Ritter, F. (1979). Kakteen in Südamerika. Spangenberg 1: 259

Resolución SEAM Nº 614 /2013 Por la cual se establecen las ecorregiones para la Regiones Oriental y Occidental del Paraguay.

Rodríguez-Arévalo, I.; A. Casas, L. Rafael y J. Campos. (2006). Uso, manejo y procesos de domesticación de Pachycereus hollianus (F.A.C. Weber) buxb. (Cactaceae), en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. Interciencia, vol. 31(9): 677-685. Caracas, Venezuela.

Rosso, C. y G. Scarpa. (2017). Etnobotánica de la alimentación entre los indígenas moqoit actuales de la provincia del Chaco (Argentina) y comparación con fuentes históricas de los siglos XVIII y XX. Bol. Soc. Argent. Bot. 52 (4): 827-840.

Scarpa, G. F. (2012). Palos, yuyos, pencas, bejucos y pastos: los nombres de las plantas y su clasificación etnobotánica por los criollos del Chaco semiárido norte (NE Salta – W Formosa, Argentina). En: Arenas, P. (ed.), Etnobotánica en zonas áridas y semiáridas del Cono Sur de Sudamérica: 117-143. CEFYBO – CONICET / UBA.

Schmeda-Hirschmann, G. (1994). Etnobotánica Ayoreo. Universum: 107-156.

Schmeda-Hirschmann, G. (1998). Etnobotánica Ayoreo: Contribución al estudio de la flora y vegetación del Chaco. XI. Candollea 53(1):1-50.

Trevisson, M. & P. Demaio. (2006). Cactus de Córdoba y el centro de Argentina. 1° Edición. Literature of Latin America (L.O.L.A.). Editorial Colin Sharp. Buenos Aires, Argentina. 77pp.

Trevison, M. y M. Perea. (2009). Cactus del oeste de Argentina. 1ª edición. LOLA -Literature of LatinAmerica. Argentina. 160 pp.

Universo Fórmulas. https://www.universoformulas.com/estadistica/inferencia/muestreo-bola-nieve/

Zuloaga, F. y Morrone, O. 1999. Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina II. Acanthaceae - Euphorbiaceae (Dicotyledoneae): 1715-1830 (Cactaceae). Missouri Botanical Garden. St. Louis, Missouri.

Zuloaga, F. y Morrone, O. (1999). Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II Acanthaceae-Euphorbiaceae (Dicotyledoneae). Misouri Botanical Garden, USA. En: http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/DetalleEspecie.asp?forma=&variedad=&subespecie=&especie=lanosus&genero=Cereus&espcod=180901

Zuloaga, F.; M. Belgrano y C. Zanotti. (2019). Actualización del Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur. Darwiniana, nueva serie 7(2):208-278. En: https://doi.org/10.14522/darwiniana.2019.72.861

ANEXO 1. Comunidades encuestadas, cantidad y ubicación

Cuadro 1. Cantidad de encuestas realizadas en las comunidades de Tobatí (Compañías), entre los meses de Junio a Setiembre de 2016.

Nº	Compañía (Barrio)	Fecha	Nº de Encuestas	Nº de Encuestadores
1	Potrero Zona A (Ñandejara Jesucristo)	14/Jun/16	7	3
2	Potrero Zona A (Ñandejara Jesucristo y Centro)	08/Jul/16	24	4
3	Rosado	03/Ago/16	16	4
4	Rosado	17/Ago/16	16	3
5	Potrero, Zona A (Santa Elena)	09/Set/16	29	3
6	Potrero, Zona A (Santa Elena)	23/Set/16	19	3
Total de Encuestas 111				

Cuadro 2. Coordenadas de las localidades de censos.

Nº	Compañía (Barrio)	COORDENADAS		Altura
		SUR	OESTE	msnm
1	Potrero Zona A (Ñandejara esucristo)	25º 18’ 209”	57º 06’ 502”	200 aprox.
2	Potrero, Zona A (Poli Centro)	25º 18’ 209”	57º 06’ 502”	s/d
3	Potrero, Zona A (Barrio Santa Lucía)	25º 16’ 807”	57º 05’ 300”	124
4	Rosado	25º 16’ 652”	57º 06’ 093”	128
5	Potrero, Zona A (Santa Elena)	25º 23’ 374”	57º 09’ 593”	126
6	Potrero, Zona A (Santa Elena)	25º 18’ 138”	57º 05’ 947”	139

ANEXO 2. Sexo, edad y ocupación de los encuestados

REFERENCIAS: F= Femenino M= Masculino AC= Ama de casa

SEXO	RANGO DE EDAD	N (Cantidad)	ACTIVIDAD ECONOMICA
F	12 - 16	5	Estudiante Primario-Secundario
	19	1	Playera en Estación de servicio
	23	1	Venta plantas medicinales
	25	2	Estudiante Universidad (Enfermería-Contabilidad)
	25	1	Agricultora
	30	1	Artesana-tejido de crochet
	32 - 45	3	Artesanía
	43	1	Peluquera
	53	1	Encargada de vivienda
	19 - 76	59	AMA DE CASA, 3 Artesanía y AC
	36-60	2	Comerciante
	Total F	**77**	

SEXO	RANGO DE EDAD	N (Cantidad)	ACTIVIDAD ECONOMICA
M	80-82	2	No trabaja más
	21-76	13	Oleros (Olería)
	31-66	6	Agricultor
	25-71	6	Artesanos y Vendedores de plantas medicinales
	31	1	Quinielero
	40	1	Herrero
	30-45	2	Constructor
	29	1	Locutor de radio
	23	1	Navegante
	20	1	Estudiante de colegio
	Total M	**34**	

SUMA DE ENCUESTADOS= 77 + 34 = 111

ANEXO 3. Folleto divulgativo 20.09.2016

Señores pobladores:

Solicitamos su colaboración para responder las encuestas

Muchas gracias!

Karaí ha kuñakaraí:

Rojerure peême orepytyvômi haĝua, pembohováivo ko'â porandu !

Aguyje

Elaboración e ilustraciones: Ana Pin (junio, 2016)
Agradecimientos: Sonia Carmagnola, Victorina González, Rosa Degen y Miguel Ruoti

CONACYT PROCIENCIA

Proyecto de investigación

sobre frutos de cactus

Kuaaha'arâ apopyrâ
tuna'a rehegua

Paraguay, 2016 -2017

Este Proyecto es financiado por el CONACYT través del Programa PROCIENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia de la Educación e Investigación – FEEI del FONACIDE.

Proyecto de Investigación / *Kuaaha'arâ apopyrâ :*

Potencial nutritivo de los frutos y caracterización ecológica de una especie nativa y endémica de Paraguay: Cereus lanosus (F. Ritter) P.J. Braun (CACTACEAE).

CONACYT
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Financia (Gs.) *Ovirume'êva*

Ejecuta, apoya y financia
Ojapo, oipytyvô, ha ovirume'êva avei

Apoya *Oipytyvô*

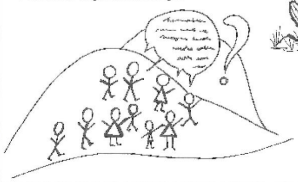
FCQ / UNA
Facultad de Ciencias Químicas / Universidad Nacional de Asunción

Proyecto (2 años) *Apopyrâ (2 ary)*

Objetivo:
Queremos saber si el fruto de esta planta tiene azúcar, minerales, fibras.

Hupytyrâ:
Roikuaase ko tuna'ápa ogueréko asuka, ĩtavi, tyvi, ha mba'e

Encuestas a pobladores
Porandu tapichakuérape



Mensaje:
Cuidemos las plantas de nuestros montes!
Son alimentos y medicinas para nosotros y los animales

Marandu:
Ñañangarekóke ka'avo ñande ka'aguýpeguáre
Umíva ha'e hi'upyrâ ha pohâ,
ñandéve ha ñane mymbakuéra pe ĝuarâ avei

ANEXO 4. Modelo cuestionario Encuesta

Potencial nutritivo de los frutos y caracterización ecológica de una especie nativa y endémica de Paraguay: *Cereus lanosus* (F. Ritter) P.J. Braun (CACTACEAE).
AEPY – FCQ /UNA CONACYT-PROCIENCIA **14-INV-205**

ENCUESTA ETNOBOTANICA Nº ____

Fecha:	Localidad:	
Encuestadores:		Método: "Bola de nieve"
Nombre-Encuestado	Sexo:	Edad:
Ocupación:	Tiempo que vive ahí:	

1. Conoce usted estas plantas llamadas "cactus" ***Nde piko ei´kuaá ko'â tuna kuera?***
(mostrar fotos de otros cactus que se le parecen o pueden confundirles):

Cereus stenogonus SI, NO, NO SE ***Cereus lanosus*** SI, NO, NO SE
Monvillea cavendishii SI, NO, NO SE *Monvillea euchlora* SI, NO, NO SE

2. Conoce dónde crece ***Cereus lanosus*** ? ***Moó o kakuaave ko tuna?***
(si responde ésta, pasar a 3 y 4)
En el cerro ( ) Fuera del cerro ( ) En bosque ( ) Borde bosque ( )

3. Sabe qué tipo de ambiente le gusta a esta planta**? *Mbaeichagua ambiente la o gustavea ko tuna pe?:***
sombra / *kuarahyá* ( ), sol suave / *kuarahy jope* ( ), sol directo / *kuarahy mimbi* ( )

NO ( )
Comentarios:_____
_____

4. Conoce qué tipo de "plagas" o "enfermedad" de la planta? ***Reikuaá mba'e ichagua mba´asy o bicho ojagarra ko tuna pe?*** SI ( ) NO ( ) NO SE ( )
Comentarios: __ _____
_____

5. Probó alguna vez su fruto?: ***Nde re uva sapy´a pe tuna yva?***
SI ( ) Fruta verde? ***Yva aky*** ( ); Fruta madura? ***Yva aju*** ( )
Qué le pareció? Mbaeichapa he ndeve la tuna yva?
(comentario): _____
_____
NO ( )

6. Si no lo probó, se animaría probarlo***? Ha nde ejeanimá he´uvo ko tuna yva?***
(no es tóxico)

SI ( ) NO SE ( ) NO ( ) Por qué NO? *(comentario)*: _____
_____

7. Hay personas de la comunidad que comen esta fruta? ***Koa ko comunida pe oi la houva ko tuna yva?***
SI ( ) Quiénes? *(comentario)*:_____
NO SE ( ) NO ( )

8. Hay otras personas que no son de la comunidad y que vienen a comer los frutos?
Oî otro yvypora ndahaeiva koapegua houva ko tuna yva?
SI ( ) NO SE ( ) NO ( )

9. Hay gente de la comunidad que "junta" el fruto de esta planta? ***Oî yvypora omono´ó a ko´á tuna yva?*** SI ( ) NO SE ( )
NO ( ) Por qué NO junta? ***Mba'ere piko?*** *(comentario)*:_____
_____

10. Los pobladores, cómo arrancan la fruta de esta planta? ***Mba'eichapa o monoó hikuai koá tuna yva?***
Con la mano ( ), con machete ( ), Otra forma ( ): _____

11. Los animales comen el fruto ? ***Umi animal kuera hoú koá tuna yva? mbaeichagua animal?***
SI ( ) Qué animales?: _____
_____
NO SE ( ) NO ( )

12. En su patio crece naturalmente este cactus (C. lanosus)? ***Nde korapype heñoi ko tuna?***
SI ( ) NO ( )

Comentario de los encuestadores:

ANEXO 5. Comentarios sobre sabor del fruto

En relación al "sabor" del fruto, se elaboró una lista de opiniones de los encuestados, que corresponden principalmente a la pregunta Nº 5, y a otros momentos de la encuesta. A continuación se exponen estas opiniones (al inicio se indica el número del formulario de Encuesta):

3. "he'ê"; le gustó; come cada vez que puede
4. algunos he'ê, otros hai. Los rojos son más maduros, más dulces; los amarillos, más agrios.
5. muy rico, sabor a kiwi
6. sí, es muy dulce; antes que se rompa
7. la pulpa es muy rica, dulce
9. " I aysy" (= es adobativo); no tiene sabor raro
10. "He'ê apovo"
11. dulce, rico
12. no es dulce (pero a sus hijos les gusto porque dicen q es dulce)
13. "He'ê; entre las semillitas parece que tiene espuma" (= se refiere a la pulpa)
16. el fruto es más o menos dulce; algunos son dulces
17. es medio agria
21. es muy rica
22. la fruta es agria, pegajosa, se parece a mburucuya
23. le gusta, aunque no es muy dulce
24. es muy rico
26. muy rico porque es refrescante; es un remedio para el estomago
27. muy rico; es su fruta preferida
28. probó el de las plantas que tienen frutas verdes y amarillas; el rojo no se come
29. es rico, dulce; la pulpa explota en la boca; es como ese dulce-esponja que se compra
33. rico, no es dulce
34. no tiene tanto sabor
36. le gustan
38. muy rico, tiene sabor
41. es dulce, riquísima
43. es parecido al kiwi; el rojo es más dulce y el amarillo es agridulce; es gomoso adentro
45. delicioso; es dulce
46. he´ê asy; es apovô
47. es agridulce
48. es rica
49. medio rico
51. es rico
53. es rico

ANEXO 5. (Continuación)

55. muy rica es la fruta
56. es muy rica
58. es rica
62. por adentro es gomosa, aysy
63. es una fruta rica
64. es dulce
67. es dulce
69. es dulce
70. es rico, dulce
71. rico, medio dulce
75. tiene sabor dulce, he´ê
79. agridulce
81. es muy rica, sobretodo las frutas rojas, pero también la amarillas
83. es jugosa y rica
84. es rica
86. es rico y dulce
88. es rica
89. no es dulce pero es refrescante
90. comió frutos abiertos y maduros, su pulpa es gelatinosa
91. es rica similar a una manzana y es de color rojo
92. es rico, el fruto de color naranja es más rico que el amarillo
95. no es muy dulce, pero es jugoso
96. es algo dulce
98. le gustó mucho, es similar a la guayaba
99. la pulpa es blanca, y con semillas negras, es dulce
100. es muy rica
105. he´ê, he´ê eterei
106. le gustó, medio dulce
111. dulce, es lindo

Análisis estructural de interacciones *in silico* de fitoconstituyentes de *Solanum americanum* Mill., *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil. y S*olanum lycopersicum* L. con la proteína tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum*

Gayozo, E.[1*] & Rojas, L.[2]

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

[2]Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Microbiología Industrial, San Lorenzo, Paraguay

[*]E-mail del autor: elviologo@gmail.com

Análisis estructural de interacciones *in silico* de fitoconstituyentes de *Solanum americanum* Mill., *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil y *Solanum lycopersicum* L. con la proteína tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum*. *Leishmania infantum* es el principal causante de leishmaniasis visceral en humanos y en varios mamíferos. Numerosos estudios sugieren que la tripanotiona reductasa (TR) es un buen blanco para la búsqueda de moléculas bioactivas capaces de interaccionar e inhibir funciones de esta proteína. El objetivo de esta investigación fue determinar *in silico* los fitoconstituyentes de *S. americanum*, *S. guaraniticum* y *S. lycopersicum* que demuestran afinidades de interacción con la TR, mediante el análisis de acoplamientos moleculares y simulaciones de dinámica molecular. Se evaluaron un total de treinta moléculas descritas en *Solanum americanum*, *Solanum guaraniticum* y *Solanum lycopersicum*. Las pruebas de acoplamiento molecular se realizaron entre estas y el sitio activo de la TR. Todas las moléculas demostraron afinidades de interacción por la TR, sin embargo, las que presentaron valores de energía de interacción significativamente favorables ($p<0,001$) entre todas fueron la solasodina, la solamargina y la manghaslina. Posteriormente, el análisis de las simulaciones de dinámica molecular reveló que solo la interacción con la solasodina demostró ser estable y presentar energía libre de interacción significativamente favorable (ΔG_u = -4,68±2,57 kcal.mol^{-1}; $p<0,05$), sin embargo, las interacciones con la solamargina y la manghaslina resultaron desfavorables (ΔG_u = 0,87±0,19 kcal. mol-1 y ΔG_u = 12,79±9,25 kcal.mol^{-1} respectivamente). Los residuos activos de la TR implicados en la interacción con la solasodina fueron la Lys60, la Tyr198 y la Arg287. Estos hallazgos sugieren que la proteína TR podría ser un blanco de interacción del glicoalcaloide solasodina, pudiendo ser un potencial inhibidor de su actividad enzimática.

Palabras claves: *Solanum*, glicoalcaloides, acoplamiento molecular, dinámica molecular.

Structural analysis of *in silico* interactions of phytoconstituents from *Solanum americanum* Mill., *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil and *Solanum lycopersicum* L. with the protein trypanothione reductase of *Leishmania infantum*. *Leishmania infantum* is the main cause of visceral leishmaniasis in humans and several other mammals. Numerous studies suggest that trypanothione reductase (TR) is a good target to search for bioactive molecules capable of interacting and inhibiting functions of this protein. The objective of this research was to determine *in silico* phytoconstituents from *Solanum americanum*, *Solanum guaraniticum* and *Solanum lycopersicum* that show interaction affinities to TR, by analysis of molecular docking and molecular dynamics simulations. A total of thirty molecules described in *S. americanum*, *S. guaraniticum*, and *S. lycopersicum* were evaluated. Molecular docking

Steviana, Vol. 12 (2), 2020 pp. 31 - 54
Original recibido el 13 de julio de 2020
Aceptado el 02 de noviembre de 2020

tests were performed between these molecules and TR's active site. All molecules demonstrated interaction affinities to TR; however, the ones which showed significantly favorable interaction energy values ($p<0.001$) were solasodine, solamargine, and manghaslin. Subsequently, the analysis of molecular dynamics simulations revealed that only the interaction with solasodine proved to be stable and present significantly favorable interaction-free energy (ΔG_u = -4.68±2.57 kcal.mol^{-1}; $p<0.05$); however, interactions with solamargine and manghaslin were unfavorable (ΔG_u = 0.87±0.19 kcal.mol^{-1} and ΔG_u = 12.79±9.25 kcal.mol^{-1} respectively). The active residues of TR involved in the interaction with solasodine were Lys60, Tyr198 and Arg287. These findings suggest that the TR protein could be an interaction target for the glycoalkaloid solasodine , and could be a potential inhibitor of its enzymatic activity.
Keywords: *Solanum*, glycoalkaloids, molecular docking, molecular dynamics

INTRODUCCIÓN

Leishmania infantum es la principal causante de leishmaniasis visceral en el ser humano y en varias especies de mamíferos (Turcano *et al.*, 2018). Según datos recabados por el Programa Nacional de Control de Zoonosis y Centro Antirrábico Nacional (PNCZ y CAN), entre los años 2016 al 2018 se registraron un total de 117 casos positivos, con un promedio de 4 casos por mes y una tasa de incidencia de 0,9 por cada 100.000 habitantes en el año 2016, 0,5 en el año 2017 y 0,3 en el año 2018 (MSPBS, 2018).

Los fármacos recomendados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para tratar la leishmaniasis visceral son la anfotericina B liposomal, antimoniales pentavalentes y anfotericina B desoxicolato, estos presentan efectos adversos afectando principalmente a riñones, hígado, y corazón además de generar hipersensibilidad en los pacientes, por lo que en algunos casos se encuentran contraindicados a pacientes inmunocomprometidos, a embarazadas y a personas con edades menores a 1 y mayores a 50 años (OPS, 2013; Tovar y Yasnot, 2017).

A causa de estos efectos adversos, durante las últimas décadas se han explorado en la búsqueda de nuevas moléculas que tengan como blanco molecular proteínas vitales de estos parásitos (Tiuman *et al*., 2011). Algunos investigadores han estudiado a la enzima tripanotiona reductasa (EC: 1.8.1.12) y han observado que pueden ser considerados como blanco molecular para la búsqueda y diseño de potenciales inhibidores reversibles, esto debido en parte a que es drogable, se encuentra exclusivamente en el protozoario y no así en el hospedero, además de que cumple con funciones vitales para la supervivencia del parásito (Tiwari *et al*., 2018; Colotti *et al*., 2013).

Esta proteína cumple funciones de oxidorreductasa y se encuentra conformada por dos cadenas simétricas (protómeros A y B), estudios estructurales han revelado que la misma cuenta con varios dominios de unión a moléculas, el primero es el dominio conocido como interfaz, conformado por los residuos 48-87, 16-65, 334-348, 433-454 y 395-398, los cuales interactúan con la molécula de tripanotiona, el segundo dominio es el dominio de unión a la NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido) conformado específicamente por los residuos 161-288 y finalmente

el tercer dominio, el cual es el de unión a la FAD (flavín adenín dinucleótido), conformado por los residuos 1-60 y 289-360 (Colotti *et al*., 2013; Turcano *et al*., 2018). La actividad depende fundamentalmente de la transferencia de electrones de la NADPH vía FAD a la tripanotiona, promoviendo de esta manera la neutralización de las moléculas de peróxido de hidrógeno producidos por los macrófagos infectados (Colotti *et al*., 2013; Turcano *et al*., 2018).

Durante las últimas décadas, varios investigadores han realizado la búsqueda de moléculas con usos potenciales como leishmanicidas en productos naturales de origen vegetal (Argüelles *et al*., 2016; Salem y Werbovetz, 2006; Venkatesan *et al*., 2011). Las plantas son fuentes de metabolitos secundarios con principios activos apreciables para la biomedicina e industrias farmacéuticas, por sus aplicaciones para el desarrollo de nuevos fármacos y la búsqueda de moléculas bioactivas (Rungsung *et al*., 2015).

En este contexto, el género Solanum es uno de los más extensos dentro de la familia Solanaceae, con un amplio rango de actividades biológicas entre los que se resaltan las acciones antiprotozoarias, actividades que dependen directamente de la presencia de una innumerable cantidad de fitoconstituyentes bioactivos como los alcaloides, las saponinas esteroidales, los glicósidos, terpenos, flavonoides, compuestos fenólicos, cumarinas y entre otros (Kaunda y Zhang, 2019).

Recientemente, Alvarenga *et al*. (2020) han demostrado que el extracto metanólico de *S. americanum* Mill., y sus fraccionamientos en cloroformo y en acetato de etilo presentan actividades antiprotozoarias contra *L. infantum*, demostrando reducciones en la cantidad de protozoarios en un 74-98% a concentraciones de 50-100 $\mu g.mL^{-1}$. De igual manera, Clementino *et al*. (2018) han reportado que los glicoalcaloides esteroidales (solasonina, solasodina y solamargina) que se encuentran en la especie *S. lycocarpum* A. St.-Hil. presentan actividades leishmanicidas *in vitro* contra promastigotes y amastigotes de *L. infantum*.

Abreu Miranda *et al*. (2013) mencionan que el glicoalcaloide solamargina extraído de los frutos de *S. lycocarpum* presentan actividades leishmanicidas contra promastigotes de *L. amazonensis* (IC_{50} = 1,1 µM). También Hubert *et al*., (2013), evaluando las actividades leishmanicidas de plantas medicinales demostraron que el extracto obtenido de la especie *S. torvum* Sw. inhibe la proliferación de promastigotes de *L. donovani* (IC_{50} = 96,08±4,39 – 86,13±4,30 $\mu g.mL^{-1}$).

Argüelles *et al*., (2016) realizando ensayos computacionales entre varios alcaloides, muchas de ellas presentes en especies de Solanum, y la tripanotiona reductasa de *Trypanosoma cruzi* revelaron que muchos de estos presentan afinidades de interacción con la enzima, entre las que se mencionan a la (22R,25R)-solasodina, (22S,25R)-solanidina y (22S,25S)- tomatidina, sin embargo, a pesar de presentar afinidades de interacción con la enzima, se desconoce la estabilidad de la interacción.

Debido a la relevancia epidemiológica de la leishmaniasis visceral en el Paraguay y a la diversidad de fitocons-

tituyentes que poseen las especies del género Solanum, se propuso como objetivo principal de esta investigación el determinar mediante ensayos *in silico* los fitoconstituyentes de las especies nativas *S. americanum* Mill., y *S. guaraniticum* A. St.-Hil y de la especie exótica *S. lycopersicum* L., que presenten potencial interacción con la enzima tripanotiona reductasa de *L. infantum* por medio del análisis estructural de los acoplamientos moleculares y las simulaciones de dinámica molecular. Las especies nativas *S. americanum* y *S. guaraniticum* fueron seleccionadas para realizar esta investigación debido a que son poco estudiadas, esto permitirá ir complementando la información científica existente de los mismos a nivel país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización de la drogabilidad del sitio de unión a NADPH y FAD

Las puntuaciones de drogabilidad del sitio de unión a las moléculas NADPH y FAD (PDB: 2X50) de la enzima tripanotiona reductasa, fueron analizados y caracterizados empleando la herramienta DoGSiteScorer (Volkamer *et al*., 2012). Para ello se determinaron los descriptores del sitio drogable como el tamaño, los grupos funcionales y la composición de residuos presente en el mismo.

Análisis de las pruebas de acoplamiento molecular entre la TR de *L. infantum* y fitoconstituyentes de *S. guaraniticum*, *S. americanum* y *S. lycopersicum*

Las estructuras moleculares de los fitoconstituyentes descritos por Kaunda & Zhang (2019) en las especies *S. guaraniticum*, *S. americanum* y *S. lycopersicum* fueron obtenidas de la base de datos PubChem (Kim *et al.*, 2016) (Tabla 1).

La estructura de la proteína tripanotiona reductasa fue obtenida de la base de datos Protein Data Bank RCSB (PDB: 2X50) (Baiocco *et al*., 2011; Berman *et al*., 2000). Las estructuras de los fitoconstituyentes y la proteína TR fueron preparadas aplicando cargas parciales y agregando átomos de hidrógeno polares empleando para ello el programa PyRx 0.8 (Dallakyan y Olson, 2015).

Las pruebas de acoplamiento molecular se realizaron con el programa AutoDock Vina v.1 (Trott y Olson, 2010) empleando una grilla de interacción con dimensiones de 31x26x41 $Å^3$. De los resultados obtenidos fueron seleccionados para realizar ensayos de acoplamientos molecular exhaustivos en una totalidad de cincuenta repeticiones, aquellas moléculas que presentaron afinidades de unión y valores de energía libre de interacción favorables. Como control del ensayo de acoplamiento molecular se empleó a la molécula NADPH.

La visualización y el análisis de los complejos resultantes del acoplamiento entre los ligandos seleccionados y la cadena A de la enzima TR se realizaron empleando el programa Discovery Studio Visualizer v. 20 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2019).

Análisis de las simulaciones de dinámica molecular

Las simulaciones de dinámica molecular se realizaron por triplicados a modo de minimizar los errores que se pueden generar en las simulaciones y

constatar la estabilidad y rendimiento energético de los ligandos, para ello se emplearon los programas NAnoscale Molecular Dynamics 2.14 (Phillips *et al*., 2005) y Visual Molecular Dynamics 1.9.3 (Humphrey *et al*., 1996).

Se utilizaron parámetros de campo de fuerza CHARMM36 (Vanommeslaeghe et al., 2010) y los datos topológicos de los ligandos fueron realizados utilizando la herramienta CHARMM-GUI (Brooks *et al*., 2009; Jo *et al*., 2008; Kim *et al*., 2017; Lee *et al*., 2016). Los complejos proteína-ligando fueron solvatados con moléculas de H_2O TIP3P en una grilla con distancias de 2-100 nm (Jorgensen *et al*., 1983). Se agregaron también iones sodio (Na^+) y cloruro (Cl^-) para neutralizar las cargas parciales del sistema (Liang *et al*., 2020). Las dinámicas moleculares fueron isotérmicas e isobáricas a temperatura y presión constantes de 310 K y 1,02 bar respectivamente, por un tiempo de 1 ns (1000 ps) con intervalos de tiempo de 2 fs, el periodo de oscilación fue de 150 fs, las velocidades fueron azarosas según la distribución de Maxwell, con una constante dieléctrica del solvente igual a 1.

La estimación de la estabilidad de la interacción se realizó calculando los valores de RMSD (raíz de la desviación cuadrática media), de RMSF (raíz de la fluctuación cuadrática media) y ΔRMSF (variación de la raíz de la fluctuación cuadrática media) de los sistemas en el tiempo simulado, para ello se utilizó el programa Visual Molecular Dynamics 1.9.3 (Humphrey *et al*., 1996).

Los valores de energía libre de unión (ΔG_u) de los ligandos en los complejos formados fueron estimados utilizando el método EIL (Energía de Interacción Lineal) (Åqvist *et al*., 1994; Hansson *et al*., 1998) utilizando para ello la herramienta CaFE (Liu y Hou, 2016).

El análisis de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) de las moléculas seleccionadas se realizaron teniendo en cuenta la regla de los cinco de Lipinski (Butina *et al*., 2002; Selick *et al*., 2002), para ello se empleó la herramienta SwissADME (Daina *et al*., 2014, Daina *et al*., 2017; Daina y Zoete, 2016).

Análisis estadístico de datos

Los valores de energía libre de unión (ΔG_u) obtenidos en las pruebas de acoplamiento molecular fueron analizados mediante el test de Kruskal-Wallis (Kruskal y Wallis, 1952) con 5% de nivel de significancia y el test *post-hoc* de Dunn (Dunn, 1964).

Los resultados de energía libre de unión (ΔG_u) obtenidas en las simulaciones de dinámica molecular fueron analizadas con el test de ANOVA con 5% de nivel de significancia (previa comprobación de supuestos), y con la prueba *post-hoc* de Tukey (5% de nivel de significancia), para ello se utilizó el programa Past v. 4.06b (Hammer *et al*., 2001). Los gráficos estadísticos fueron realizados empleando los programas Past v. 4.06b (Hammer *et al*., 2001) y Microsoft Excel (2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tripanotiona reductasa (TR) es una oxidorreductasa homodimérica conformada por dos cadenas A y B, en las cuales se identifican los mismos sitios de

unión de las moléculas intercambiadoras de electrones NADPH y FAD (Figura 1.A, B).

Este sitio de unión a la NADPH y FAD demostró una puntuación de drogabilidad igual a 0,81, lo cual nos sugiere que es altamente drogable y utilizable como blanco para la búsqueda o diseño de potenciales inhibidores (Volkamer *et al*., 2012) (Figura 1.C).

Este sitio de unión identificado posee un volumen de 2577,62 $Å^3$, una superficie de 2981,11 $Å^2$ y una profundidad de 33 Å, con 509 átomos presentes en el mismo, 78 grupos funcionales con la capacidad de generar puentes de hidrógeno (donadores), unos 159 grupos aceptores de puentes de hidrógeno y un 39% de hidrofobicidad con 151 grupos capaces de generar interacciones hidrofóbicas. También se ha identificado la presencia de residuos apolares en un 47%, residuos polares en un 38%, residuos básicos en un 7% al igual que la presencia de residuos ácidos, destacándose un ligero aumento en la cantidad de residuos apolares en comparación a la de residuos polares. Los residuos presentes en este sitio activo fueron Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr y Val.

Montrieux *et al.* (2014) emplearon al ácido rosmarínico y al ácido cafeico junto con otros fitoconstituyentes de

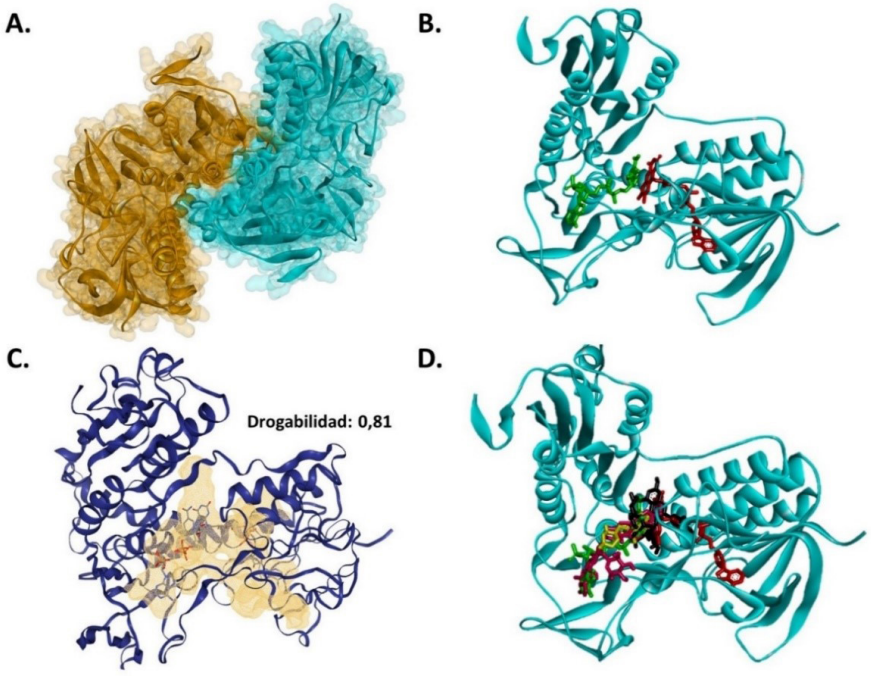


Figura 1: A. Representación de la tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum*, PDB: 2X50 (Cadena A: celeste; Cadena B: naranja). **B.** Región activa de la cadena A en acoplamiento con las moléculas FAD (rojo) y NADPH (verde). **C.** Sitio activo de interacción (naranja) e índice de drogabilidad. **D.** Sitio de acoplamiento de las moléculas seleccionadas solasodina (amarillo), solamargina (fucsia), manghaslina (negro) en comparación a los sitios de acoplamiento de la FAD (rojo) y la NADPH (verde)

Pluchea carolinensis (Jacq.) D.Don y evidenciaron que ambas moléculas presentan actividades leishmanicidas contra *L. amazonensis* con una IC_{50} de 0,7±0,3 µM y 5,2±1,1 µM respectivamente ante promastigotes e IC_{50} de 4,8±1,2 µM y 16,0±1,8 µM respectivamente ante amastigotes intracelulares, en ambas se determinaron índices de selectividad de 20 y 11 respectivamente. A su vez, Garcia *et al.* (2019) y da Silva *et al*. (2019) demostraron que ambas moléculas (ácido rosmarínico y ácido cafeico) son capaces también de inhibir las actividades de la enzima arginasa de los parásitos *L. infantum* y *L. amazonensis*.

De igual manera, los ensayos realizados con los fitoconstituyentes de la especie *S. americanum*, evidenciaron que las moléculas solamargina y solasodina fueron las que demostraron valores energéticos más favorables (ΔG_u = -11,3 y -9,4 kcal.mol^{-1} respectivamente) entre todas las moléculas evaluadas. También se destaca que la energía ΔG_u estimada en los fitoconstituyentes restantes fueron favorables con valores de entre -7,0 a -9,3 kcal.mol^{-1} (Tabla 1).

De entre los fitoconstituyentes estudiados de la especie *S. lycopersicum* se registró que las manghaslina y el lanosterol fueron las moléculas que presentaron energía libre de unión más favorables (ΔG_u = -9,9 kcal.mol^{-1} y ΔG_u = -10,2 kcal.mol^{-1} respectivamente), los demás fitoconstituyentes también evidenciaron valores energéticos favorables de -7,0 a -9,7 kcal.mol^{-1} (Tabla 1).

Las moléculas que fueron seleccionadas para llevar a cabo las repeticiones de las pruebas de acoplamiento molecular fueron el ácido rosmarínico, la solasodina, la solamargina, la manghaslina y el lanosterol. El ácido rosmarínico reveló un promedio una energía libre de unión de -8,44 ± 0,25 kcal.mol^{-1} (Figura 2).

Con los fitoconstituyentes solamargina y solasodina se registraron en promedio valores de ΔG_u iguales a -11,50 ± 1,01 kcal.mol^{-1} y -9,70 ± 0,62 kcal.mol^{-1} respectivamente. A su vez, las moléculas manghaslina y lanosterol, evidenciaron ΔG_u iguales a -10,11 ± 0,72 kcal.mol^{-1} y -8,50 ± 0,46 kcal.mol^{-1} respectivamente.

En estas pruebas se pudo registrar que la solamargina, la solasodina y la manghaslina fueron las moléculas que demostraron valores de ΔG_u significativamente favorables (p<0,001) en comparación a lo obtenido con los demás fitoconstituyentes (Figura 2).

La solasodina, la solamargina y la manghaslina revelaron poseer afinidades de interacción por el sitio de unión de la NADPH-FAD y por residuos del sitio catalítico de la TR (Figura 1 D, 3A, B, C).

Los residuos que se encuentran activamente participando en la formación del complejo TR:solasodina fueron la Lys60, la Tyr198 y la Arg287. Se registró la formación de puentes de hidrógeno entre la solasodina y la Lys60 con distancias promedio de 4,74 Å entre ellas. También se pudo identificar la formación de interacciones hidrofóbicas entre los orbitales π de la Tyr198 y las cadenas de alquilo presentes en la solasodina, con distancia promedio de 5,12 Å entre ellos.

Tabla 1: Resultados obtenidos en las pruebas de acoplamiento molecular

Fitoconstituyentes	PubChem CID	ΔG_u (kcal.mol^{-1})
NADPH†	-	-9,2
Solanum guaraniticum		
Ácido Rosmarínico	5281792	-9,8
Ácido Cafeico	689043	-7,1
Solanum americanum		
Ácido 3-Indolcarboxílico	69867	-6,6
Ácido 4-hidroxibenzoico	135	-6,1
Ácido Corcórico B	9861431	-7,0
Loliolido	100332	-7,0
N-trans-Feruloiltiramina	5280537	-9,3
N-trans-p-Cumaroiloctopamina	23874492	-9,0
N-trans-p-Cumaroiltiramina	5372945	-9,1
Ácido p-Cumárico	637542	-6,5
Resveratrol	445154	-8,0
Solamargina	73611	-11,3
Solasodina	442985	-9,4
Solanum lycopersicum		
Diosgenina	99474	-9,1
Tomatidenol	12442871	-8,7
α-Tomatina (Tomatina)	28523	-9,4
Tomatidina	65576	-9,0
Esculeosido A	10887728	-9,7
Friedelina	91472	-8,9
Manghaslina	11498684	-9,9
β-Sitosterol	222284	-8,5
Clionasterol	457801	-8,9
Stigmasterol	5280794	-8,9
γ-Tocoferol	92729	-7,6
Ergosterol	444679	-9,7
Lanosterol	246983	-10,2
Umbelliferona	5281426	-7,0
Bergamottina	5471349	-9,1
Esculetina	5281416	-7,3
Zizibeosido I	11972301	-9,2

†Control

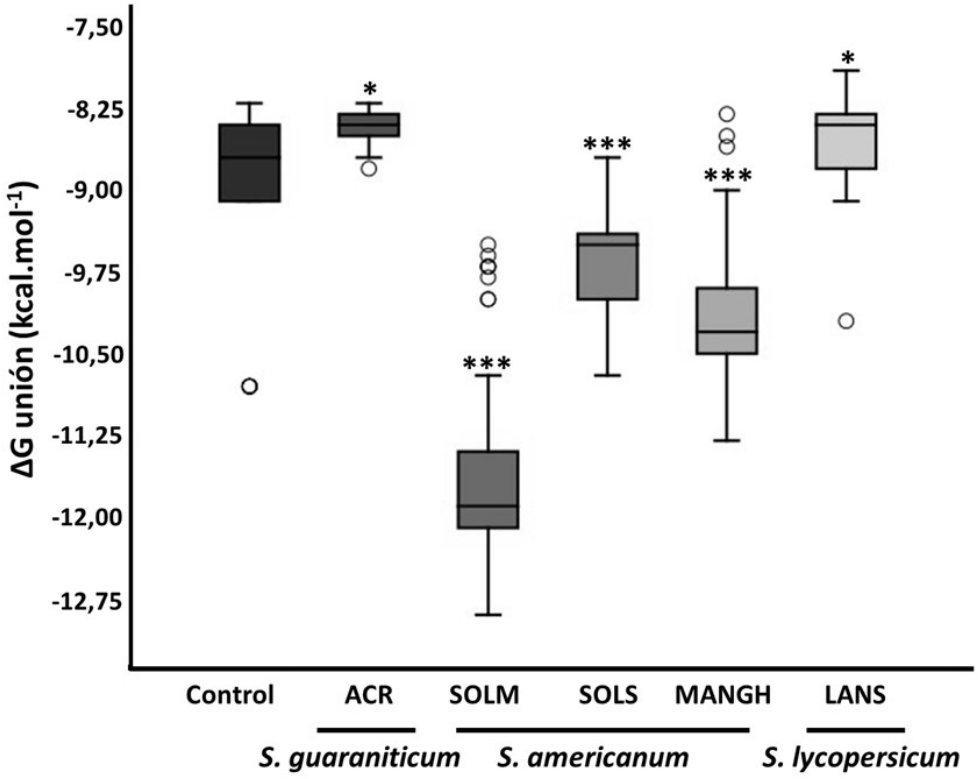


Figura 2: Valores de energía libre de interacción (ΔG_u) obtenidas en las pruebas de acoplamiento molecular de los fitoconstituyentes seleccionados. Control: NADPH, ACR: ácido rosmarínico, SOLM: solamargina, SOLS: solasodina, MANGH: manghaslina, LANS: lanosterol. *p<0,05; *** p<0,001.

De igual manera se identificó la formación de interacciones hidrofóbicas entre el segmento alquilo de la cadena lateral del residuo Arg287 y la cadena de alquilo presente en la solasodina, con una distancia promedio de 5,71 Å entre ambas. Los residuos del sitio bolsillo de interacción fueron Gly56, Cys57, Gly197, Ile199, Arg228, Gly286, Met333 y Leu334 (Figura 3A).

La solasodina se ha descrito en numerosas especies de la familia Solanaceae, es un glicoalcaloide del tipo esteroidal, al igual que la solamargina. La solasodina, al igual que las especies que la sintetizan, son muy valoradas por sus aptitudes farmacológicas, ya que las mismas son empleadas para la producción de corticoesteroides, esteroides anabólicos y drogas con efectos antifertilidad, también se le atribuye varias acciones tales como anticonvulsivo, antioxidante, antiinflamatorio, hepatoprotector, inmunomodulador, antimicrobiano, entre otras actividades (Kumar *et al*., 2019; Mann, 1979).

Las actividades leishmanicidas de la solasodina fueron atribuidas a las propiedades fisicoquímicas de la molécula, ya que por su carácter principalmente

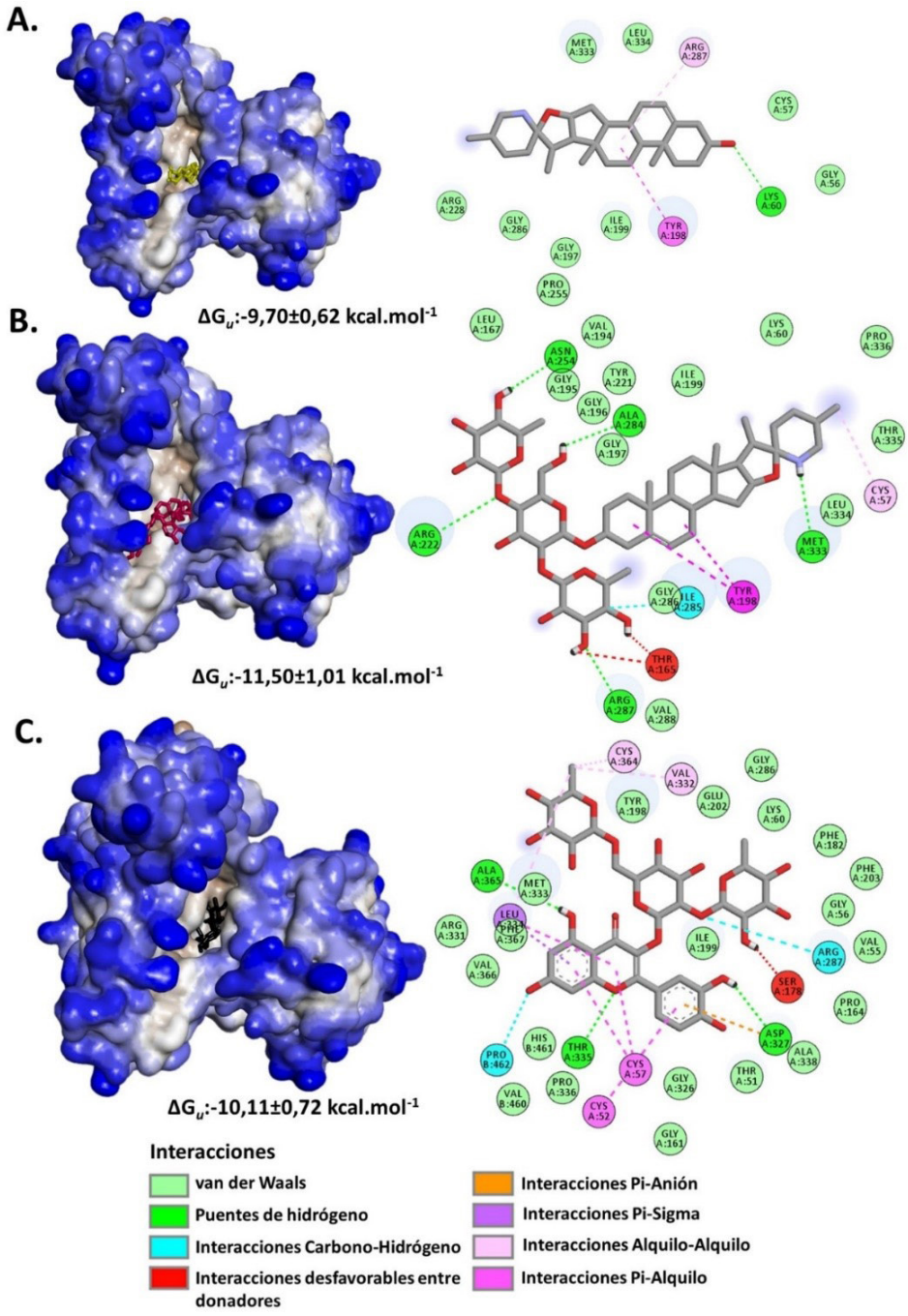


Figura 3: Modelos tridimensionales de superficie hidrofóbica (azul: hidrofílico, marrón: hidrofóbico) y bidimensionales de los complejos formados con las moléculas seleccionadas. **A.** Solasodina. **B.** Solamargina. **C.** Manghaslina

hidrofóbico permitiría a estas moléculas atravesar la membrana plasmática de la *L. infantum* rica en glicoproteínas ancladas con glicosilfosfatidilinositol, y una vez dentro del citoplasma del parásito interactuar con posibles blancos proteicos (Cham y Daunter, 1990; Clementino *et al.*, 2018; Ndjakou Lenta *et al*., 2007).

A su vez, los residuos activos presentes en el complejo TR:solamargina fueron Cys57, Tyr198, Arg222, Asn254, Ala284, Ile285, Arg287 y Met333. La formación del complejo se encontraba estabilizado por la formación de puentes de hidrógeno entre la solamargina y los residuos Arg222, Asn254, Ala284, Arg287 y Met333, con distancias promedios de 4,58, 4,37, 4,59, 6,33 y 5,48 Å respectivamente.

También se pudo identificar la formación de puentes de hidrógeno no convencionales del tipo Carbono-Hidrógeno entre la solamargina y el residuo Ile285, con una distancia promedio de 5,98 Å (Gómez-Jeria *et al*., 2020) (Figura 3B).

Se registró además la formación de interacciones hidrofóbicas entre orbitales π de la Tyr198 y las cadenas de alquilo de la solamargina, con distancias de entre 5,07 y 6,09 Å, e interacciones entre las cadenas de alquilo de la Cys57 y de la solamargina con una distancia promedio de 4,41 Å.

También se detectó la existencia de interacciones desfavorables entre la solamargina y el residuo Thr165, ocasionada por repulsiones entre los átomos del residuo y del ligando (Dhorajiwala *et al*., 2019; Musfiroh *et al*., 2020). Los residuos que forman parte del sitio bolsillo de interacción son Lys60, Leu167, Val194, Gly195, Gly196, Gly197, Ile199, Tyr221, Pro255, Gly286, Gly288, Leu334, Thr335 y Pro336 (Figura 3B).

Los residuos activos presentes en el complejo TR:manghaslina fueron Cys52, Cys57, Arg287, Asp327, Val332, Leu334, Thr335, Cys364 y Ala365, entre los que se identificaron la formación de puentes de hidrógeno entre la manghaslina y los residuos Asp327, Thr335 y Ala365 con distancias promedios de 3,60, 4,16 y 4,33 Å respectivamente. Se pudo registrar también la formación de puentes de hidrógeno no convencionales del tipo Carbono-Hidrógeno con el residuo Arg287 con una distancia promedio de 4,49 Å.

Las interacciones electrostáticas fueron detectadas entre los orbitales π de la manghaslina y las cargas negativas del Asp327, con distancia promedio de 6,88 Å. También se registró la formación de interacciones entre los orbitales π de la manghaslina y orbitales σ de la Leu334 con una distancia de 4,21 Å (Figura 3C).

Se pudieron detectar interacciones hidrofóbicas entre grupos alquilo de la manghaslina y los residuos Leu334, Cys364 y Val332 con distancias entre residuos-ligando de 5,09, 5,56 y 5,05 Å respectivamente. Se observó la formación de interacciones entre orbitales π presentes en la manghaslina y segmentos alquilo de los residuos Cys52, Cys57 y Leu334 con distancias entre los residuos y el ligando de 5,22, 5,77 y 5,46 Å.

También se observó la existencia de posibles repulsiones moleculares entre la molécula de manghaslina y el residuo Ser178. Los residuos presentes en el sitio bolsillo de unión fueron Thr51, Val55, Gly56, Lys60, Gly161, Pro164,

Phe182, Tyr198, Ile199, Gly202, Phe203, Gly286, Gly326, Arg331, Met333, Pro336, Ala338, Val366 y Phe367 (Figura 3C).

De entre los residuos que se encuentran participando en la formación de los distintos complejos, la Tyr198 cumple un rol fundamental en la unión de la NADPH a la TR, donde el anillo aromático de la cadena lateral de la Tyr sufre una rotación de unos 120° para poder acomodar correctamente al anillo de nicotínico de la NADPH (Baiocco *et al*., 2009; Colotti *et al*., 2013).

Así también se ha descrito que el residuo Arg228 presente en la TR participa en la interacción de la NADPH, específicamente con el oxígeno (2 y 3) presentes en el 2' fosfato de la adenina-ribosa de la molécula (Baiocco *et al*., 2009). A su vez, el residuo Ile199 también se encuentran cumpliendo un papel importante durante la unión de la NADPH y la TR, específicamente se encuentra interaccionando con el átomo de oxígeno (2) del grupo fosfato unido a la adenina, el residuo de Met333 se encuentra conservado interespecíficamente en la estructura de la TR, la misma también se encuentra interaccionando con el anillo de nicotinamida ribosa específicamente con el átomo de oxígeno (Baiocco *et al*., 2009).

Otros residuos que se encuentran cumpliendo funciones importantes en la unión de la molécula NADPH a la TR son la Ala365, la Arg222 y la Tyr221, el primer residuo se encuentra interaccionando con la nicotinamida, el segundo con los átomos de oxígeno (1 y 3) presentes en la posición 2' fosfato y el último interacciona también con los oxígenos (1 y 2) del 2' fosfato (Baiocco *et al*., 2009).

Los residuos Cys52 y Cys57 se encuentran altamente conservados interespecíficamente en la estructura de la TR, estos están presentes en el sitio catalítico y en un estado oxidado de la enzima forman puentes de disulfuro entre sí, sin embargo, en el estado reducido este puente de disulfuro se rompe permitiendo la entrada de iones de antimonio (III) y formando una estructura coordinada tetraédricamente por las dos cisteínas y el antimonio (Baiocco *et al*., 2009; Colotti *et al*., 2013).

Debido al alto costo computacional que conlleva realizar las simulaciones de dinámica molecular, fueron seleccionadas aquellos ligandos que demostraron tener energías de interacción más favorables, estas fueron las moléculas de solasodina, solamargina y manghaslina.

Las simulaciones de dinámica molecular realizadas con la solasodina evidenciaron un promedio de RMSD de 1,367 ± 0,095 Å, la misma fue ligeramente menor en comparación a la observada en la forma "apo" de la cadena A de la TR, donde se registró un valor promedio de 1,485 ± 0,164 Å, observándose valores semejantes durante los primeros 0,47 ns, sin embargo, los restantes 0,53 ns, se identifica un ligero aumento en los valores RMSD de la cadena A (Figura 4A). En primera instancia, es importante resaltar que los valores de RMSD nos dan informaciones sobre la estabilidad de los complejos durante el tiempo en el que se realiza la simulación, además de establecer el período de equilibrio y la calidad de las simulaciones biomoleculares realizadas (Sargsyan *et al*., 2017;

Liang *et al*., 2020).

Se registraron mayores fluctuaciones (RMSF) principalmente entre los residuos Thr39-Ser87, también en la Ser14, en la Thr177 y en el Glu185, en comparación a las fluctuaciones presentada por la cadena A en su forma apo, lo cual nos indica mayor flexibilidad en los residuos mencionados, cabe resaltar la notable disminución en las fluctuaciones de los residuos presentes en la cadena A de la TR, lo cual nos sugiere una estabilidad al evidenciarse menor fluctuación (movilidad) (Liang *et al*., 2020; Martínez, 2015) (Figura 4B). Los valores de RMSF nos dan las informaciones específicas acerca de las desviaciones de los átomos con respecto a la posición promedio del complejo a lo largo del tiempo que dura la simulación realizada, esto con el fin de evaluar las interacciones e inferir en la estabilidad de las mismas (Alvarez Rojas, 2018; Liang *et al*., 2020).

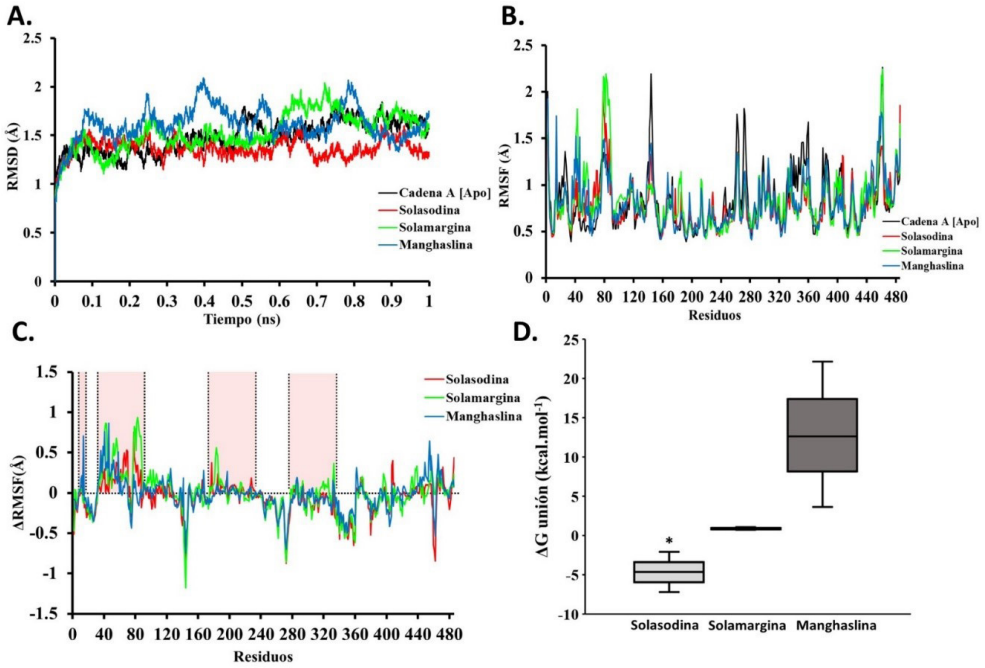


Figura 4: A. Valores de desviaciones cuadráticas media de las posiciones atómicas (RMSD) de los complejos y la cadena A [Apo]. **B.** Valores de las fluctuaciones cuadráticas media (RMSF) de los complejos y la cadena A [Apo]. **C.** Valores de las variaciones de las fluctuaciones cuadráticas media (ΔRMSF). **D.** Valores de energía libre de unión (ΔG_u) de las moléculas en unión con la TR. **p*<0,05

Sin embargo, la variación de RMSF (ΔRMSF) del complejo en relación a las fluctuaciones registradas en la forma apo de la cadena A nos da una mayor información acerca del movimiento que presentan los residuos en el tiempo simulado, la misma evidenció cuatro regiones en las que se observa una mayor fluctuación de los residuos la primera involucra a los residuos Leu10-Ser14, seguida de una región con altos valores de fluctuación entre los residuos Asp35-Trp92, la

siguiente región es de menor fluctuación y se encuentra comprendida entre los residuos Thr165, Thr177-Asp231, por último los residuos alojados entre la Leu283-Gln295 corresponden a los residuos activos que se encuentran en el sitio activo de unión con la solasodina (Figura 4C).

La dinámica molecular llevada a cabo con la solamargina evidenció un promedio de RMSD de 1,536 ± 0,192 Å, el cual fue ligeramente mayor a lo observado en la forma apo de la cadena A, sin embargo, en la mayor parte del tiempo simulado no se detectaron grandes cambios en los valores de las desviaciones medias calculadas, solo entre los 0,6-0,78 ns se pudo registrar un aumento (Figura 4A). Se observaron mayores fluctuaciones (RMSF) entre los residuos Ala32-Asp71, Gly77-Cys89, Lys93-Gly127, Thr177-Val194, Ala204-Asp218, Met282-Gln292 y Gln210-Leu334, corresponden a residuos que se encuentran presentes en el sitio activo de la proteína (Figura 4B,C).

A su vez la dinámica molecular realizada con la manghaslina registró un promedio RMSD de 1,613 ± 0,177 Å, el cual fue mayor en comparación a lo determinado con la forma apo de la cadena A, comportamiento observado en casi la totalidad del tiempo simulado (Figura 4A). Se observaron mayores movilidades en los residuos Leu10-Ser14, Ala32-Leu72, Phe79-Ala128, Glu141-Leu167, Leu184-Tyr210, Gly286, Ala293, Val332 y Val362, los cuales se encontraban también formando parte del sitio bolsillo de unión de esta molécula (Figura 4.B,C).

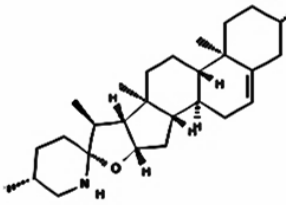
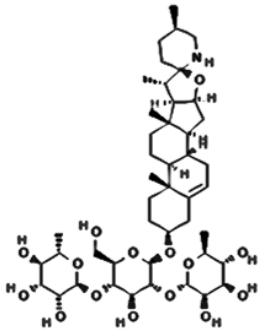
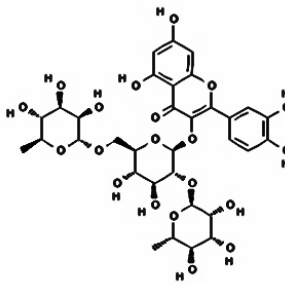
Los cálculos de la energía libre de Gibbs de unión (ΔG_u) de las moléculas seleccionadas reveló que la interacción con la solasodina fue la que presentó valores significativamente favorables (ΔG_u = -4,68 ± 2,57 kcal.mol^{-1}; p<0,05). Sin embargo, los valores de energía ΔG_u obtenidas en las simulaciones con la solamargina (ΔG_u = 0,87 ± 0,19 kcal.mol^{-1}) y la manghaslina (ΔG_u = 12,79 ± 9,25 kcal.mol^{-1}) demostraron que a pesar de presentar afinidades de interacción con la proteína TR estas fueron desfavorables e inestables en contraste a lo observado con la solasodina, lo cual se ajusta también a lo registrado en los valores de RMSD y RMSF de los complejos (Figura 4D).

El análisis de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) de las moléculas seleccionadas, según la regla de los cinco de Lipinski (1995), ha demostrado que la molécula solasodina fue la que presentó mayores aptitudes para potencial desarrollo farmacológico (Tabla 2).

La regla de los cinco de Lipinski requiere que la molécula evaluada posea peso molecular menor a los 500 Da, un coeficiente de partición agua-octanol (LogP) no mayor a un valor de cinco, este coeficiente nos da una idea acerca de la lipofilicidad de la molécula, también es un requisito de la regla que no presente un número mayor de cinco grupos funcionales donadores de puentes de hidrógeno y no mayor de diez grupos funcionales aceptores de puentes de hidrógeno (Butina *et al*., 2002; Chandel *et al*., 2020; Daina *et al*., 2014; Selick *et al*., 2002).

La solasodina no evidenció infracciones a esta regla, sin embargo, las

Tabla 2: Propiedades ADME de los fitoconstituyentes seleccionados para este estudio.

Fitoconstituyente	Propiedades ADME			
	Propiedades‡	**Valor**	**Farmacocinética**	
Solasodina	**Fórmula Molecular**	$C_{27}H_{43}NO_2$	**Absorción GI***	A
	**Peso Molecular (<500 Da)**	412,64	**Inhibidor CYP1A2**	No
	LogP⁑ (<5)	4,25	**Inhibidor CYP2C19**	No
	Donadores de P-H† (5)	3	**Inhibidor CYP2C9**	No
	Aceptores de P-H (<10)	2	**Inhibidor CYP2D6**	No
	Número de Infracciones	0	**Inhibidor CYP3A4**	No
Solamargina	**Fórmula Molecular**	$C_{45}H_{73}NO_{15}$	**Absorción GI**	B
	**Peso Molecular (<500 Da)**	868,06	**Inhibidor CYP1A2**	No
	LogP (<5)	5,31	**Inhibidor CYP2C19**	No
	Donadores de P-H† (5)	9	**Inhibidor CYP2C9**	No
	Aceptores de P-H (<10)	16	**Inhibidor CYP2D6**	No
	Número de Infracciones	4	**Inhibidor CYP3A4**	No
Manghaslina	**Fórmula Molecular**	$C_{33}H_{40}O_{20}$	**Absorción GI**	B
	**Peso Molecular (<500 Da)**	756,66	**Inhibidor CYP1A2**	No
	LogP (<5)	2,79	**Inhibidor CYP2C19**	No
	Donadores de P-H† (5)	12	**Inhibidor CYP2C9**	No
	Aceptores de P-H (<10)	20	**Inhibidor CYP2D6**	No
	Número de Infracciones	3	**Inhibidor CYP3A4**	No

‡Regla de los 5 de Lipinski, ⁑Coeficiente de partición octanol-agua, †Puentes de Hidrógeno, *Gastrointestinal, A: Alto, B: Bajo.

moléculas solamargina y manghaslina presentaron un total de cuatro y tres infracciones respectivamente, lo cual hace que estas moléculas, además de presentar interacciones inestables y desfavorables con la proteína TR, no presenten aptitudes para su potencial uso farmacológico por una baja absorción (Tabla 2).

Además, el análisis de las propiedades farmacocinéticas de la solasodina, demostró otra ventaja por sobre la solamargina y la manghaslina que es la alta absorción gastrointestinal. También es importante destacar que ninguna de las moléculas seleccionadas presentaron afinidades de interacción por las proteínas Citocromo P450 (CYP), por las que pueden no ser consideradas como potenciales inhibidores de las CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 y CYP3A4, proteínas claves en el metabolismo de drogas o xenobióticos (Chandel *et al*., 2020; Guengerich, 2008; Guengerich *et al*., 2005) (Tabla 2).

Numerosos estudios han demostrado que varias especies del género Solanum y moléculas bioactivas extraídas de las mismas presentan actividades leishmanicidas. Anwar (2018) reportó que el extracto metanólico de *S. incanum* L. posee actividades leishmanicidas contra *L. infantum* con IC_{50} de 27,3 $\mu g.mL^{-1}$.

También Okba *et al*. (2018) han demostrado que el extracto metanólico de la especie *S. villosum* presenta actividades leishmanicidas importantes contra *L. infantum* (IC_{50} = 2,0 $\mu g.mL^{-1}$) con una selectividad relevante.

Clementino *et al*. (2018) demostraron la actividad leishmanicida del extracto etanólico de *S. lycocarpum* y de sus alcaloides (solasodina, solasonina, solamargina), siendo la solasodina la de mayor efectividad contra *L. infantum*, pero con un menor índice de selectividad.

De igual manera, Martins *et al.,* (2014) empleando diferentes fracciones obtenidas de *S. lycocarpum* evidenciaron que presentan importantes actividades antiparasíticas y que la molécula solamargina junto con la solasonina presentan efectos sinérgicos contra la *L. infantum.* También Mans *et al*. (2016) destaca que el extracto obtenido de *S. lycocarpum* presenta efectos leishmanicidas contra promastigotes de *L. guyanensis*, *L. mayor* y *L. donovani* con una IC_{50} promedio de 51, 61 y <16 $\mu g.mL^{-1}$ respectivamente.

A su vez, Mothana *et al*. (2014) han demostrado también que el extracto metanólico de *S. glabratum* demuestra actividades leishmanicidas contra *L. infantum* (IC_{50} = 8,1 $\mu g.mL^{-1}$). Recientemente, Alvarenga *et al*. (2020) empleando el extracto metanólico de *S. americanum* y sus fracciones obtenidas en cloroformo y acetato de etilo, evidenciaron que también presentan actividades leishmanicidas contra *L. infantum*.

Así también, Argüelles *et al*. (2016) llevando a cabo pruebas de acoplamiento molecular entre alcaloides vegetales y la estructura de la enzima TR de *T. cruzi*, evidenciaron que varios compuestos alcaloides presentan afinidades de interacción por la TR, entre los cuales se encuentra la (22R,25R)-solasodina quien presentó energía de interacción favorable con valores de entre -9,78 a 10,54 $kcal.mol^{-1}$. Venkatesan *et al*.(2011) en un estudio *in silico* demostraron que alcaloides como solasodina y presentaron afinidades de interacción por la proteína TR de *L. infantum* con un valor de energía de interacción de -11,51 $kcal.mol^{-1}$.

En otro estudio Lezama-Dávila *et al*. (2016) demostraron que el alcaloide solamargina también presenta actividad antileishmanicidal in vitro contra *L. mexicana,* demostró mayor efecto sobre

amastigotes son una IC_{50} de 6,03-13,4 µM en comparación a lo registrado con promastigotes (IC_{50} = 35,1 µM). También Chataing *et al*., (1998) destaca la acción tripanocida del alcaloide α-solamargina con una inhibición del crecimiento del parásito de entre 17,7-87,2%.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio *in silico* revelaron que varios fitoconstituyentes demuestran poseer afinidades de interacción con la proteína tripanotiona reductasa de la *L. infantum.* Entre los fitoconstituyentes analizados, los que presentaron mayores afinidades de interacción en las pruebas de acoplamiento molecular fueron la solasodina, la solamargina y la manghaslina (ΔG_u = -9,70±0,62, -11,50±1,01 y -10,11±0,46 kcal.mol^{-1} respectivamente).

Sin embargo, las simulaciones de dinámica molecular demostraron que solo la interacción entre la tripanotiona reductasa y la solasodina fue significativamente favorable (ΔG_u = -4,68 ± 2,57 kcal.mol^{-1}, p<0,05), en comparación a lo observado con las demás moléculas (ΔG_u = 0,87±0,19 y 12,79±9,25 kcal.mol^{-1} respectivamente). El análisis ADME realizado evidenció solo a la solasodina con aptitudes farmacológicas en comparación a la solamargina y la manghaslina quienes violan la regla de Lipinski. Se recomienda realizar ensayos in vitro de inhibición enzimática con la TR y el alcaloide a modo de confirmar su potencial actividad inhibitoria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu Miranda, M., Tiossi, R. F. J., da Silva, M. R., Rodrigues, K. C., Kuehn, C. C., Rodrigues Oliveira, L. G., Albuquerque, S., McChesney, J. D., Lezama-Davila, C. M., Isaac-Marquez, A. P., & Kenupp Bastos, J. (2013). In vitro Leishmanicidal and Cytotoxic Activities of the Glycoalkaloids from Solanum lycocarpum (Solanaceae) Fruits. Chemistry & Biodiversity, 10(4), 642-648. https://doi.org/10.1002/cbdv.201200063.

Alvarenga, E., Yaluff, G., Alvarenga, N., Portillo, N. y amp; Laterza, E. (2020). Evaluación in vitro de la actividad antiprotozoaria sobre *Leishmania infantum* del extracto metanólico y las fracciones de *Solanum americanum*. Libro de Resúmenes del V Encuentro de Investigadores. 202 pp.

Alvarez Rojas, O. (2018). La contaminación industrial de aguas, una mirada microbiológica y molecular. Universidad Santiago de Cali.

Antwi, C. A., Amisigo, C. M., Adjimani, J. P., & Gwira, T. M. (2019). In vitro activity and mode of action of phenolic compounds on Leishmania donovani. PLOS Neglected Tropical Diseases, 13(2), e0007206. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007206.

Anwar, S. (2018). Pharmacological Investigation of *Solanum incanum* Against *P. falciparum*, *L. infantum*, *T. cruzi* and *T. brucei*: A Role of Antioxidant Effect and Clinical overview. Biomedical and Phar-

macology Journal, 11(2), 653-660.

Åqvist, J., Medina, C., & Samuelsson, J.-E. (1994). A new method for predicting binding affinity in computer-aided drug design. Protein Engineering, Design and Selection, 7(3), 385-391. https://doi.org/10.1093/protein/7.3.385

Argüelles, A. J., Cordell, G. A., & Maruenda, H. (2016). Molecular Docking and Binding Mode Analysis of Plant Alkaloids as in vitro and in silico Inhibitors of Trypanothione Reductase from Trypanosoma cruzi. Natural Product Communications, 11(1),934578X1601100118.https://doi.org/10.1177/1934578X1601100118

Baiocco, P., Colotti, G., Franceschini, S., & Ilari, A. (2009). Molecular Basis of Antimony Treatment in Leishmaniasis. Journal of Medicinal Chemistry, 52(8), 2603-2612. https://doi.org/10.1021/jm900185q

Baiocco, P., Ilari, A., Ceci, P., Orsini, S., Gramiccia, M., Di Muccio, T., & Colotti, G. (2011). Inhibitory Effect of Silver Nanoparticles on Trypanothione Reductase Activity and Leishmania infantum Proliferation. ACS Medicinal Chemistry Letters, 2(3), 230-233. https://doi.org/10.1021/ml1002629

Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The Protein Data Bank. Nucleic Acids Research, 28(1), 235-242. https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235

Brooks, B. R., Brooks, C. L., Mackerell, A. D., Nilsson, L., Petrella, R. J., Roux, B., Won, Y., Archontis, G., Bartels, C., Boresch, S., Caflisch, A., Caves, L., Cui, Q., Dinner, A. R., Feig, M., Fischer, S., Gao, J., Hodoscek, M., Im, W., Lazaridis, T., Ma, J., Ovchinnikov, V., Paci, E., Pastor, R. W., Post, C. B., Pu, J. Z., Schaefer, M., Tidor, B., Venable, R. W., Woodcock, H. L., Wu, X., Yang, W., York, D. M., & Karplus, M. (2009). CHARMM: The biomolecular simulation program. Journal of Computational Chemistry, 30(10), 1545-1614. https://doi.org/10.1002/jcc.21287

Butina, D., Segall, M. D., & Frankcombe, K. (2002). Predicting ADME properties in silico: Methods and models. Drug Discovery Today, 7(11), S83-S88. https://doi.org/10.1016/S1359-6446(02)02288-2

Cham, B. E., & Daunter, B. (1990). Solasodine glycosides. Selective cytotoxicity for cancer cells and inhibition of cytotoxicity by rhamnose in mice with sarcoma 180. Cancer Letters, 55(3), 221-225. https://doi.org./10.1016/0304-3835(90)90122-E

Chandel, V., Raj, S., Rathi, B., & Kumar, D. (2020). In silico identification of potent FDA approved drugs against Coronavirus COVID-19 main protease: A drug repurposing approach. Chemical Biology Letters, 7(3), 166-175.

Chataing, B., Concepción, J. L., Lobatón, R., & Usubillaga, A. (1998). Inhibition of Trypanosoma cruzi

Growth in vitro by Solanum Alkaloids: A Comparison with Ketoconazole. Planta Medica, 64(1), 31-36. https://doi.org/10.1055/s-2006-957361

Clementino, L. da C., Velásquez, A. M. A., Passalacqua, T. G., Almeida, L. de, Graminha, M. A. S., Martins, G. Z., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Sousa, M. do C., & Moreira, R. R. D. (2018). In vitro activities of glycoalkaloids from the *Solanum lycocarpum* against *Leishmania infantum*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 28, 673-677. https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.07.008

Colotti, G., Baiocco, P., Fiorillo, A., Boffi, A., Poser, E., Chiaro, F. D., & Ilari, A. (2013). Structural insights into the enzymes of the trypanothione pathway: Targets for antileishmaniasis drugs. Future Medicinal Chemistry, 5(15), 1861-1875. https://doi.org/10.4155/fmc.13.146

Dassault Systèmes BIOVIA. (2019). Discovery Studio Visualizer, version 20.1, San Diego: Dassault Systèmes.

da Silva, E. R., Brogi, S., Grillo, A., Campiani, G., Gemma, S., Vieira, P. C., & Maquiaveli, C. do C. (2019). Cinnamic acids derived compounds with antileishmanial activity target Leishmania amazonensis arginase. Chemical Biology & Drug Design, 93(2), 139-146. https://doi.org/10.1111/cbdd.13391

Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2014). iLOGP: A Simple, Robust, and Efficient Description of n-Octanol/Water Partition Coefficient for Drug Design Using the GB/SA Approach. Journal of Chemical Information and Modeling, 54(12), 3284-3301. https://doi.org/10.1021/ci500467k

Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Scientific Reports, 7(1), 42717. https://doi.org/10.1038/srep42717

Daina, A., & Zoete, V. (2016). A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. ChemMedChem, 11(11), 1117-1121. https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182

Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. En J. E. Hempel, C. H. Williams, & C. C. Hong (Eds.), Chemical Biology: Methods and Protocols (pp. 243-250). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7_19

Dhorajiwala, T. M., Halder, S. T., & Samant, L. (2019). Comparative In Silico Molecular Docking Analysis of L-Threonine-3-Dehydrogenase, a Protein Target Against African Trypanosomiasis Using Selected Phytochemicals. Journal of Applied Biotechnology Reports, 6(3), 101-108. https://doi.org/10.29252/JABR.06.03.04

Dunn, O. J. (1964). Multiple Compari-

sons Using Rank Sums. Technometrics, 6(3), 241-252. https://doi.org/10.1080/00401706.1964.10490181

Frearson, J. A., Wyatt, P. G., Gilbert, I. H., & Fairlamb, A. H. (2007). Target assessment for antiparasitic drug discovery. Trends in Parasitology, 23(12), 589-595. https://doi.org/10.1016/j.pt.2007.08.019

Garcia, A. R., Oliveira, D. M. P., Claudia F. Amaral, A., Jesus, J. B., Rennó Sodero, A. C., Souza, A. M. T., Supuran, C. T., Vermelho, A. B., Rodrigues, I. A., & Pinheiro, A. S. (2019). *Leishmania infantum* arginase: Biochemical characterization and inhibition by naturally occurring phenolic substances. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 34(1), 1100-1109. https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1616182

Gómez-Jeria, J. S., Robles-Navarro, A., Kpotin, G. A., & Gatica-Díaz, N. (2020). Some remarks about the relationships between the common skeleton concept within the Klopman-Peradejordi-Gómez QSAR method and the weak molecule-site interactions. Chemistry Research Journal, 5(2), 32-52.

Guengerich, F. P. (2008). Cytochrome P450 and Chemical Toxicology. Chemical Research in Toxicology, 21(1), 70-83. https://doi.org/10.1021/tx700079z

Guengerich, F. P., Wu, Z.-L., & Bartleson, C. J. (2005). Function of human cytochrome P450s: Characterization of the orphans. Biochemical and Biophysical Research Communications, 338(1), 465-469. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.08.079

Hammer, O., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica, 4(1), 9.

Hansson, T., Marelius, J., & Åqvist, J. (1998). Ligand binding affinity prediction by linear interaction energy methods. Journal of Computer-Aided Molecular Design, 12(1), 27-35. https://doi.org/10.1023/A:1007930623000

Hubert, D. J., Céline, N., Michel, N., Gogulamudi, V. R., Florence, N. T., Johnson, B. N., Bonaventure, N. T., Singh, I. P., & Sehgal, R. (2013). In vitro leishmanicidal activity of some Cameroonian medicinal plants. Experimental Parasitology, 134(3), 304-308. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.03.023

Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996). VMD: Visual molecular dynamics. Journal of Molecular Graphics, 14(1), 33-38. https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5

Jo, S., Kim, T., Iyer, V. G., & Im, W. (2008). CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM. Journal of Computational Chemistry, 29(11), 1859-1865. https://doi.org/10.1002/jcc.20945

Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W., & Klein, M. L. (1983). Compa-

rison of simple potential functions for simulating liquid water. The Journal of Chemical Physics, 79(2), 926-935. https://doi.org/10.1063/1.445869

Kaunda, J. S., & Zhang, Y. J. (2019). The Genus Solanum: An Ethnopharmacological, Phytochemical and Biological Properties Review. Natural Products and Bioprospecting, 9(2), 77-137. https://doi.org/10.1007/s13659-019-0201-6

Kim, S., Lee, J., Jo, S., Brooks, C. L., Lee, H. S., & Im, W. (2017). CHARMM-GUI ligand reader and modeler for CHARMM force field generation of small molecules. Journal of Computational Chemistry, 38(21), 1879-1886. https://doi.org/10.1002/jcc.24829

Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B. A., Wang, J., Yu, B., Zhang, J., & Bryant, S. H. (2016). PubChem Substance and Compound databases. Nucleic Acids Research, 44(D1), D1202-D1213. https://doi.org/10.1093/nar/gkv951

Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. Journal of the American Statistical Association, 47(260), 583-621. https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441

Kumar, R., Khan, M. I., Prasad, M., & Badruddeen. (2019). Solasodine: A Perspective on their roles in Health and Disease. Research Journal of Pharmacy and Technology, 12(5), 2571-2576. https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00432.3

Lee, J., Cheng, X., Swails, J. M., Yeom, M. S., Eastman, P. K., Lemkul, J. A., Wei, S., Buckner, J., Jeong, J. C., Qi, Y., Jo, S., Pande, V. S., Case, D. A., Brooks, C. L., MacKerell, A. D., Klauda, J. B., & Im, W. (2016). CHARMM-GUI Input Generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM Simulations Using the CHARMM36 Additive Force Field. Journal of Chemical Theory and Computation, 12(1), 405-413. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935

Lezama-Dávila, C. M., McChesney, J. D., Bastos, J. K., Miranda, M. A., Tiossi, R. F., da Costa, J. de C., Bentley, M. V., Gaitan-Puch, S. E., & Isaac-Márquez, A. P. (2016). A New Antileishmanial Preparation of Combined Solamargine and Solasonine Heals Cutaneous Leishmaniasis through Different Immunochemical Pathways. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 60(5), 2732-2738. https://doi.org/10.1128/AAC.02804-15

Liang, J., Pitsillou, E., Karagiannis, C., Darmawan, K. K., Ng, K., Hung, A., & Karagiannis, T. C. (2020). Interaction of the prototypical α-ketoamide inhibitor with the SARS-CoV-2 main protease active site in silico: Molecular dynamic simulations highlight the stability of the ligand-protein complex. Computational Biology and Chemistry, 87, 107292. ht-

tps://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2020.107292

Lipinski, C. A. (1995). Computational alerts for potential absorption problems: profiles of clinically tested drugs. En: Tools for Oral Absorption. Part Two. Predicting Human Absorption. BIOTEC, PDD symposium, AAPS, Miami.

Liu, H., & Hou, T. (2016). CaFE: A tool for binding affinity prediction using end-point free energy methods. Bioinformatics, 32(14), 2216-2218. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw215

Mann, J. D. (1979). Production of Solasodine for the Pharmaceutical Industry. En N. C. Brady (Ed.), Advances in Agronomy (Vol. 30, pp. 207-245). Academic Press. https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60707-5

Mans, D. R. A., Beerens, T., Magali, I., Soekhoe, R. C., Schoone, G. J., Oedairadjsingh, K., Hasrat, J. A., van den Bogaart, E., & Schallig, H. D. F. H. (2016). In vitro evaluation of traditionally used Surinamese medicinal plants for their potential anti-leishmanial efficacy. Journal of Ethnopharmacology, 180, 70-77. https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.01.012

Martínez, L. (2015). Automatic Identification of Mobile and Rigid Substructures in Molecular Dynamics Simulations and Fractional Structural Fluctuation Analysis. PLOS ONE, 10(3), e0119264. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119264

Martins, G. Z., Souza, M. do C. R., Cicarelli, R. M. B., Planeta, C. S., & Moreira, R. R. D. (2014). Evaluation of the antiparasitic activities of extracts and glycoalkaloids isolated of the fruit of the Solanum lycocarpum. Planta Medica, 80(16), P1L84. https://doi.org/10.1055/s-0034-1394741

Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSPBS). (2018). Informes Anuales: Reporte de Casos de Leishmaniasis Visceral en humanos y caninos notificados al Programa Nacional de Control de Zoonosis y Centro Antirrábico Nacional Paraguay, Período 2016 al 2018.

Montrieux, E., Perera, W. H., García, M., Maes, L., Cos, P., & Monzote, L. (2014). In vitro and in vivo activity of major constituents from Pluchea carolinensis against Leishmania amazonensis. Parasitology Research, 113(8), 2925-2932. https://doi.org/10.1007/s00436-014-3954-1

Mothana, R. A., Al-Musayeib, N. M., Al-Ajmi, M. F., Cos, P., & Maes, L. (2014). Evaluation of the In Vitro Antiplasmodial, Antileishmanial, and Antitrypanosomal Activity of Medicinal Plants Used in Saudi and Yemeni Traditional Medicine. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014, e905639. https://doi.org/10.1155/2014/905639

Musfiroh, I., Azura, A. R., & Rahayu, D. (2020). Prediction of Asiatic Acid Derivatives Affinity Against SARS-CoV-2 Main

Protease Using Molecular Docking. Pharmaceutical Sciences and Research, 7(4). https://doi.org/10.7454/psr.v7i4.1086

Ndjakou Lenta, B., Vonthron-Sénécheau, C., Fongang Soh, R., Tantangmo, F., Ngouela, S., Kaiser, M., Tsamo, E., Anton, R., & Weniger, B. (2007). In vitro antiprotozoal activities and cytotoxicity of some selected Cameroonian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 111(1), 8-12. https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.036

Organización Panamericana de la Salud. (2013). Leishmaniasis visceral en las Américas Recomendaciones para el Tratamiento. Washington. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=-com_docman&task=doc_view&-gid=22226&Itemid

Okba, M. M., Sabry, O. M., Matheeussen, A., & Abdel-Sattar, E. (2018). In vitro antiprotozoal activity of some medicinal plants against sleeping sickness, Chagas disease and leishmaniasis. Future Medicinal Chemistry, 10(22), 2607-2617. https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0180

Phillips, J. C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., Chipot, C., Skeel, R. D., Kalé, L., & Schulten, K. (2005). Scalable molecular dynamics with NAMD. Journal of Computational Chemistry, 26(16), 1781-1802. https://doi.org/10.1002/jcc.20289

Rungsung, W., Ratha, K., Dutta, S., Dixit, A. K., & Hazra, J. (2015). Secondary metabolites of plants in drugs discovery. World Journal of Pharmaceutical Research, 4, 604-613.

Salem, M. M., & Werbovetz, K. A. (2006). Natural Products from Plants as Drug Candidates and Lead Compounds Against Leishmaniasis and Trypanosomiasis. Current Medicinal Chemistry, 13(21), 2571-2598. https://doi.org/10.2174/092986706778201611

Sargsyan, K., Grauffel, C., & Lim, C. (2017). How Molecular Size Impacts RMSD Applications in Molecular Dynamics Simulations. Journal of Chemical Theory and Computation, 13(4), 1518-1524. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00028

Selick, H. E., Beresford, A. P., & Tarbit, M. H. (2002). The emerging importance of predictive ADME simulation in drug discovery. Drug Discovery Today, 7(2), 109-116. https://doi.org/10.1016/S1359-6446(01)02100-6

Tiuman, T. S., Santos, A. O., Ueda-Nakamura, T., Filho, B. P. D., & Nakamura, C. V. (2011). Recent advances in leishmaniasis treatment. International Journal of Infectious Diseases, 15(8), e525-e532. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.03.021

Tiwari, N., Tanwar, N., & Munde, M. (2018). Molecular insights into trypanothione reductase-inhibitor interaction: A structure-based review. Archiv Der Pharmazie, 351(6), 1700373. https://doi.

org/10.1002/ardp.201700373.

Tovar, C., y Yasnot, M. (2017). Leishmaniasis visceral en América Latina y perspectivas terapéuticas. Revista MVZ Córdoba, 22(supl), 6075-6088.

Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. Journal of Computational Chemistry, 31(2), 455-461. https://doi.org/10.1002/jcc.21334

Turcano, L., Torrente, E., Missineo, A., Andreini, M., Gramiccia, M., Muccio, T. D., Genovese, I., Fiorillo, A., Harper, S., Bresciani, A., Colotti, G., & Ilari, A. (2018). Identification and bindingmode of a novel Leishmania Trypanothione reductase inhibitor from high throughput screening. PLOS Neglected Tropical Diseases, 12(11), e0006969. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006969

Vanommeslaeghe, K., Hatcher, E., Acharya, C., Kundu, S., Zhong, S., Shim, J., Darian, E., Guvench, O., Lopes, P., Vorobyov, I., & Mackerell, A. D. (2010). CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. Journal of Computational Chemistry, 31(4), 671-690. https://doi.org/10.1002/jcc.21367

Venkatesan, S. K., Saudagar, P., Shukla, A. K., & Dubey, V. K. (2011). Screening natural products database for identification of potential antileishmanial chemotherapeutic agents. Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences, 3(3), 217. https://doi.org/10.1007/s12539-011-0101-x

Volkamer, A., Kuhn, D., Grombacher, T., Rippmann, F., & Rarey, M. (2012). Combining Global and Local Measures for Structure-Based Druggability Predictions. Journal of Chemical Information and Modeling, 52(2), 360-372. https://doi.org/10.1021/ci200454v

Diversidad de especies vegetales en bosques con distintos grados de perturbación en la Reserva Natural Itabó, Itaipú Binacional, Paraguay

Imas, H[1*]; Silva, H[2]; Mereles, F[3-4]

[1]Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Maestría en Biología de la Conservación
[2]Superintendencia de Gestión Ambiental, Dirección de Coordinación Ejecutiva, Itaipú Binacional, Paraguay
[3]Investigador Asociado, Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC), Asunción-Paraguay
[4]Programa Nacional de Incentivo a Investigadores, Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología, (PRONII-CONACYT), Paraguay
*E-mail del autor: heltonimas@hotmail.com

Diversidad de especies vegetales en bosques con distintos grados de perturbación en la Reserva Natural Itabó, Itaipú Binacional, Paraguay. Como parte del trabajo sobre el rol de los servicios ecosistémicos que presenta el Bosque del Alto Paraná (Paraguay), se calculó el Índice de Diversidad Vegetal que presenta. Se seleccionaron dos tipos de bosques: modificado y no modificado en la Reserva Natural Itabó, de la Entidad Binacional Itaipú, Ecorregión Alto Paraná, departamento Alto Paraná, Paraguay. El objetivo fue el de comparar la diversidad vegetal entre ambos bosques. Para la determinación de la diversidad, se calculó la abundancia absoluta y relativa de las especies arbóreas en aquellos individuos con un diámetro a la altura del pecho (DAP) de 10 cm o más, en una superficie de 1ha en cada tipo de bosque. Se utilizaron varios índices, entre los que se destacan los de Margalef y Menhinik, que proporcionan datos de la riqueza de especies vegetales, y se basan en el número total de individuos y el número total de especies. También se trabajó con el índice de Shannon-Wiener, que relaciona el número de individuos con cada una de las especies de la muestra presentes en la parcela. Se utilizó el Índice de Simpson, que considera la probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar, sean de la misma especie y finalmente se calculó la similitud de especies, según Jaccard, Sorensen y Morisita-Horn. Los resultados indican que ambos bosques no presentan diferencias significativas en cuanto a la diversidad de especies, ambos comparten entre el 43 y 60% de las especies, con un 54% de similitud.
Palabras claves: Abundancia absoluta y relativa, Índices de Diversidad, Ecorregión Alto Paraná, Paraguay

Plant species diversity in forests with different degrees of disturbance in the Itabó Natural Reserve, Itaipú Binacional, Paraguay. As part of the work on the role of the ecosystem services performed by forests, the Plant Diversity Index was calculated. In the Itabó Natural Reserve of the Itaipu Binational Entity, Alto Paraná Ecoregion, Alto Paraná Department, two types of forests were selected: modified and unmodified. The objective was to compare plant diversity between both forests. For the determination of diversity, the absolute and relative abundance of tree species of those individuals with a diameter-at-breast-height (BHD) of 10 cm or more on a surface of 1 ha for each type of forest is calculated. Several types of indexes were used, among which those of Margalef and Menhinik stand out, which specify the data of the richness of the plant species, and are based on the total number of individuals and the number of species. The Shannon-Wiener index was also used, which relates the number of individuals with each of the species in the sample present in the plot. The Simpson index was

Steviana, Vol. 12 (2), 2020 pp. 55- 69
Original recibido el 03 de octubre de 2019
Aceptado el 07 de mayo de 2020

used, which considers the probability that two randomly selected individuals will be of the same species; and finally, the similarity of species was calculated according to Jaccard, Sorensen, and Morisita-Horn. The results indicated that the two forests do not show significant differences in the diversity of species, both share between 43 and 60% of the species, with a 54% similarity.
Keywords: Absolute and relative abundance, Index of Plant Diversity, forest, Alto Paraná Ecorregion, Paraguay

INTRODUCCIÓN

Los Servicios Ecosistémicos constituyen todos aquellos beneficios obtenidos por la humanidad de un ecosistema, del cual dependen (Costanza *et al*., 1997). Entre los ecosistemas terrestres, los bosques otorgan una gran variedad de estos servicios (Balvanera, 2012) y para valorarlos adecuadamente, se necesita conocer cuáles son las especies vegetales que los componen y su diversidad específica. Igualmente lo es el valor que presentan los ecosistemas boscosos para la conservación de la biodiversidad, ya sea como proveedores de alimentos, hábitat, o por su mismo valor de existencia, (De Bello *et al*., 2010, Casanoves *et al*., 2011).

El bosque sub-tropical húmedo y semi-deciduo del Alto Paraná se extiende desde la costa Atlántica hasta el Este de Paraguay. Fue clasificado por Eiten (1974) como Bosque Tropical Siempre-verde Mesofítico o Bosque Tropical de Hoja Ancha, Mesofítico Deciduo Se caracteriza por estar integrado por especies típicas de climas subtemplado-cálido, (Mori *et al*., 1981; López *et al*., 1987; Keel *et al*., 1993). Según algunos autores, se denomina como Mata Atlántica o Bosque Atlántico (Dinerstein *et al*., 1995, Davis *et al*., 1997, Di Bitetti *et al.*, 2003) y más específicamente como Bosque Atlántico del Alto Paraná (BAAPA) en la región Oriental del Paraguay. Este bosque constituye la porción más continental del Bosque Atlántico y posee una rica diversidad (Cartes, 2000 y 2005). Para este bosque se han citado más de 70 especies de plantas, todas amenazadas de extinción y 50 consideradas como vulnerables, muchas de gran valor comercial y endémicas del mismo (Cartes, 2000, 2005; Fundación Moisés Bertoni, 1994). En su estado natural el BAAPA se caracteriza por no formar una gran masa continua, debido a que sus especies son altamente dependientes del tipo de suelo (Mereles, 2004), alternándose con sabanas más o menos abiertas, que según Cartes (2004) presentan un gradiente Sur-Norte y Este-Oeste. Debido a que el área que ocupan estos bosques se caracteriza por la heterogeneidad edáfica, no son uniformes en su composición florística, ya que muchas de sus especies son propias de determinados tipos de suelos (Mereles, 2004).

La explotación antrópica de los ecosistemas boscosos ha sido una constante en todo el mundo. Esto también ha sucedido y continúa en ambas regiones naturales del Paraguay, y muy especialmente en la Ecorregión Alto Paraná. Esta última, característica de la región Oriental, ha sido el blanco principal, a causa de la calidad forestal de la madera de las es-

pecies que habitan en estos bosques. En la actualidad, debido a la intensa deforestación, solo quedan remanentes boscosos dentro de las Reservas Nacionales que corresponden al 25% de superficies boscosas contemplada dentro de la Ley 422/73 (Forestal). Estas áreas protegidas están completamente rodeadas de áreas de cultivo de commodities pertenecientes al complejo soja.

En muchos casos estos remanentes, sobre todo aquellos que forman parte de reservas forestales de propiedades privadas, ya se encuentran muy degradados, la mayoría de ellos inconexos entre sí, y con pocas probabilidades de resiliencia y homeostasia alguna. Por este motivo rige la Ley "Que prohíbe las actividades de transformación y conversión de superficies con cobertura de bosques en la región Oriental", conocida como Ley de Deforestación Cero o pausa ecológica vigente hasta el 2025. La destrucción de estos bosques tiene como principal consecuencia potencial, la pérdida de especies aún no conocidas y/o mencionadas para el país.

Respecto de la pérdida de las especies, González Parini (2005) menciona varios items: - los endemismos encontrados en el bosque alto paranaense, - las especies amenazadas, -la falta de conocimientos básicos como los taxonómicos y etnobotánicos y -los conocimientos estructurales de los bosques; como herramientas indispensables para la conservación. Sin embargo prácticamente ninguno de estos puntos fueron tomados en cuenta durante la pausa ecológica.

Es por ello que urge el desarrollo de metodologías para cuantificar el valor de las especies arbóreas y de los bosques o remanentes de éstos, para el servicio de conservación (Hoffmann *et al*., 2010; Bennet y Saunders, 2010).

El objetivo del trabajo fue el de calcular los Índices de Diversidad de ambos tipos de bosques, modificado y no modificado, para posteriormente compararlos entre si y, observar las diferencias significativas. Con esto se generará una herramienta más para facilitar lineamientos de manejo en las reservas naturales estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en dos tipos de bosques de la Reserva Natural Itabó, Ecorregión Alto Paraná (Acevedo *et al*., 1992), una de las unidades de conservación de la Itaipú Binacional del lado paraguayo y cuya gran masa es conocida en la actualidad como Bosque Atlántico del Alto Paraná, Figura 1. Se seleccionaron dos tipos de bosques: uno de ellos no modificado, BNM [25º 04' 34" S - 54º 42' 35" W] y sin evidencias de perturbaciones antrópicas importantes y el otro modificado, BM [25º 04' 00" S - 54º 42' 40" W], ubicado en una zona utilizada anteriormente con fines agropecuarios previo a la creación de la reserva, en el año 1982, Figura 2.

Composición florística
Abundancia

El método demandó el diseño de parcelas de 10.000 m² con 100 m x 100 m de lado, divididas en 25 cuadrantes de 400 m², 20 m x 20 m de lado cada uno (Lamprecht, 1990). La selección de las parcelas se realizó al azar, en los dos ti-

pos de bosques. Se consideraron aquellos individuos cuyos fustes tuvieran un diámetro a la altura del pecho (DAP) mayor o igual a 10 cm. Todos los árboles fueron marcados con chapas y georreferenciados, para facilitar su posterior localización.

Se calculó la abundancia absoluta y relativa de los individuos dentro de las parcelas, con el diámetro mencionado, Figuras 3 y 4.

Para cada árbol, se registraron los siguientes datos:

-Nombre científico y nombre vernáculo,

-Diámetro a la altura del pecho (DAP), medido a aproximadamente 1.30 m del suelo

-Altura total del mismo en m

-Diámetro de copa en m, entendiéndose esto como la proyección al suelo de dos diámetros perpendiculares de la copa de cada árbol.

Las identificaciones taxonómicas de las especies en muchos casos fueron hechas in situ. Para aquellas especies que no pudieron ser identificadas a campo, se realizaron colectas botánicas de los ejemplares, y fueron determinadas en gabinete. Las mismas se encuentran depositadas en el Herbario de Itaipú.

Posteriormente se elaboró un listado de las especies identificadas en ambos tipos de bosques, para cada parcela (Tabla 1).

Índices de diversidad y similitud

La diversidad es el número de especies en una unidad de área, medida por varios métodos. Existen diversos tipos de diversidad y para este trabajo se tuvo en cuenta la diversidad alfa (α), que es la riqueza de especies de una comunidad particular a la que se considera homogénea (Smith, 1997). Para este trabajo, se utilizaron los siguientes índices:

Índices de Riqueza Específica (Margalef, 1969), según la siguiente fórmula:

$$D_{mg} = \frac{S - 1}{\ln N}$$

En donde:
S = número de especies
N = número total de individuos

Índice de Diversidad de Menhinik (Margalef, 1969), también basado en la relación entre el número de especies y el número total de individuos, el que aumenta al aumentar el tamaño de la muestra. Para este cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$D_{mn} = \frac{S}{N}$$

El cálculo de abundancia relativa de las especies arbóreas se utilizó para determinar el Índice de Equidad de Shannon-Wiener (H') y el Índice de Dominancia y Diversidad de Simpson (D).

El Índice de Shannon-Wiener (Margalef, 1969), relaciona el número de especies con la proporción de individuos pertenecientes a cada una de ellas, presentes en la muestra. Además, mide la uniformidad de distribución de los individuos entre las especies, mediante la fórmula:

$$H = - \sum p_i . In\, p_i$$

En donde:
pi = igual a la proporción entre ni y N
ni = número de individuos de la especie i

El Índice de dominancia de Simpson (Margalef, 1969), considera la probabilidad que dos individuos de la población seleccionados al azar sean de la misma especie. Indica la relación existente entre riqueza o número de especies y la abundancia o número de individuos por especie. Su expresión es:

$$D_{Si} = \sum_{i=1}^{S} p_i^2$$

pi = igual a la proporción entre ni y N
ni = número de individuos de la especie i
Finalmente se comparó la diversidad de especies arbóreas entre ambas parcelas evaluadas a través de la prueba t de Hutcheson (Margalef, 1969), a un nivel de confianza del 95%. Esta prueba es utilizada para observar la existencia de diferencia significativa entre el índice de diversidad de Shannon entre dos muestras. La fórmula utilizada es la siguiente:

$$t = \frac{H_a - H_b}{\sqrt{S^2{}_{H_a} + S^2{}_{H_b}}}$$

Donde:
H_a y H_b: Índices de diversidad de Shannon para los dos sitios
S^2Ha y S^2Hb: Varianza de cada sitio evaluado.

RESULTADOS

Área de estudio

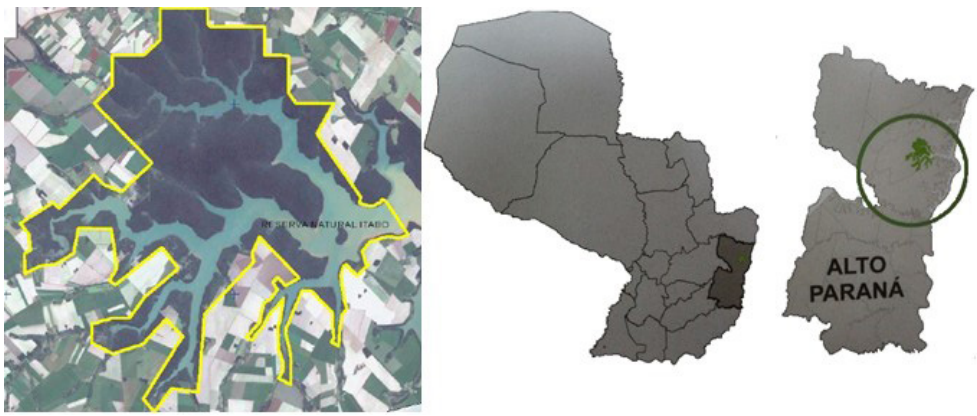


Figura 1. Mapa y ubicación de la Reserva Natural Itabo en el Paraguay y el departamento de Alto Paraná. Fuente: Itaipú (2016)

Composición florística y estructura diamétrica

Figura 2. Ubicación de los Bosques estudiados en la Reserva Biológica de Itabó. Itaipú (2016)

Tabla 1. Lista de especies que aparecen en ambas parcelas: BM y BNM

Familia	Especies	BNM	BM
Fabaceae	*Albizia niopoides* Burkart	x	
Sapindaceae	*Allophylus edulis* Hieron.	x	
Cyatheaceae	*Alsophila setosa* Kaulf.	x	
Fabaceae	*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. cebil (Griseb.) Altschul		x
Annonaceae	*Annona cacans* Warm.	x	x
Apocynaceae	*Aspidosperma polyneuron* Mül. Arg	x	
Rutaceae	*Balfourodendron riedelianum* Engler	x	x
Salicaceae	*Banara arguta* Briq.	x	
Salicaceae	*Banara tomentosa* Clos	x	
Meliaceae	*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.	x	x
Myrtaceae	*Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O.Berg	x	
Myrtaceae	*Campomanesia xanthocarp*a O. Berg	x	
Salicaceae	*Casearia decandra* Jacq.	x	x
Salicaceae	*Casearia gossypiosperma* Briq.	x	x
Salicaceae	*Casearia sylvestris* Sw.	x	x

Urticaceae	*Cecropia pachystachya* Trécul	x	x
Meliaceae	*Cedrela fissilis* Vell.	x	x
Bombacaceae	*Ceiba speciosa* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Ravenna	x	
Sapotaceae	*Chrysophyllum gonocarpum* (Mart. & Eichler) Engl.	x	x
Sapotaceae	*Chrysophyllum marginatum* (Hook. & Arn.) Radlk.	x	
Cardiopteridaceae	*Citronella paniculata* (Mart.) R.A. Howard	x	x
Fabaceae	*Copaifera langsdorfii* Desf.		x
Boraginaceae	*Cordia americana* (L.) Gottschling & J.S. Mill.	x	x
Boraginaceae	*Cordia ecalyculata* Vell.	x	x
Boraginaceae	*Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud.	x	x
Asparagaceae	*Cordyline sellowiana* Kunth		x
Rubiaceae	*Coussarea contracta* (Walp.) Benth. & Hook. ex Müll. Arg.	x	
Sapindaceae	*Cupania vernalis* Cambess.	x	
Fabaceae	*Dalbergia frutescens* (Vell.) Britton		x
Sapindaceae	*Diatenopteryx sorbifolia* Radlk.	x	x
Ebenaceae	*Diospyros inconstans* Jacq.		x
Lauraceae	*Endlicheria paniculata* (Spreng.) J.F. Macbr.	x	x
Myrtaceae	*Eugenia pitanga* (O. Berg) Kiaersk.	x	
Myrtaceae	*Eugenia uniflora* L.	x	
Moraceae	*Ficus enormis* (Mart. ex Miq.) Miq.		x
Fabaceae	*Guibourtia hymenaeifolia* (Moric.) J. Léonard		x
Bignoniaceae	*Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos		x
Rutaceae	*Helietta apiculata* Benth.	x	x
Fabaceae	*Holocalyx balansae* Micheli	x	x
Aquifoliaceae	*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.	x	x
Fabaceae	*Inga uraguensis* Hook. & Arn.		x
Bignoniaceae	*Jacaranda cuspidifolia* Mart. ex DC.	x	
Bignoniaceae	*Jacaranda micrantha* Cham.		x
Caricaceae	*Jacaratia spinosa* (Aubl.) A. DC.	x	
Tiliaceae	*Luehea candicans* Mart.		x
Tiliaceae	*Luehea divaricata* Mart.	x	x
Fabaceae	*Machaerium paraguariense* Hassl.		x

Fabaceae	*Machaerium stipitatum* (DC.) Vogel	x	x
Moraceae	*Maclura tinctoria* (L.) Steud.	x	x
Sapindaceae	*Matayba elaeagnoides* Radlk.	x	x
Fabaceae	*Muellera campestris* (Mart. ex Benth.) M.J. Silva & A.M.G. Azevedo	x	x
Myrtaceae	*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand	x	
Fabaceae	*Myrocarpus frondosus* Allemão	x	x
Primulaceae	*Myrsine parvula* (Mez) Otegui	x	
Primulaceae	*Myrsine umbellata* Mart.		x
Lauraceae	*Nectandra lanceolata* Nees & Mart.	x	x
Lauraceae	*Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez	x	x
Lauraceae	*Ocotea diospyrifolia* (Meisn.) Mez	x	x
Fabaceae	*Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan	x	x
Fabaceae	*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.	x	x
Nyctaginaceae	*Pisonia zapallo* Griseb.	x	
Myrtaceae	*Plinia rivularis* (Cambess.) Rotman	x	
Rosaceae	*Prunus subcoriacea* (Chodat & Hassl.) Koehne	x	
Fabaceae	*Pterogyne nitens* Tul.		x
Araliaceae	*Schefflera morototoni* (Aubl.) Maguire, Steyerm. & Frodin	x	
Fabaceae	*Senegalia polyphylla* Britton & Rose ex Britton & Killip		x
Solanaceae	*Solanum sanctae-catharinae* Dunal	x	
Moraceae	*Sorocea bonplandii* (Baill.) W.C.Burger, Lanj. & Wess. Boer	x	
Arecaceae	*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman	x	x
Apocynaceae	*Tabernaemontana catharinensis* A. DC.		x
Salicaceae	*Xylosma venosa* N.E. Br.		x
Rutaceae	*Zanthoxylum caribaeum* Lam.	x	
Rutaceae	*Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg.	x	x
Rutaceae	*Zanthoxylum petiolare* A. St.-Hil. & Tul.	x	
Rutaceae	*Zanthoxylum rhoifolium* Lam.	x	x

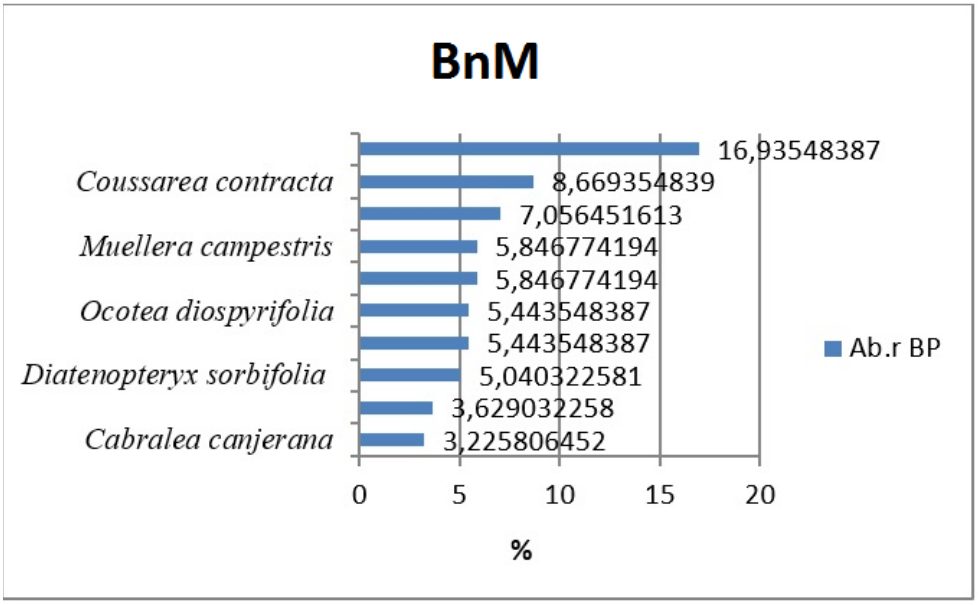


Figura 3. Abundancia relativa en el BnM, con las 10 especies más representativas (n= 498)

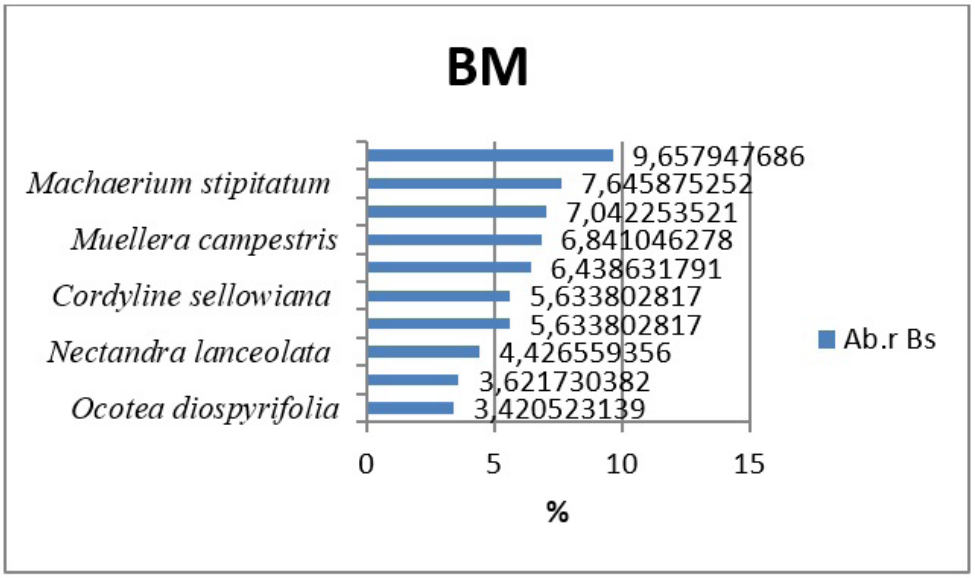


Figura 4. Abundancia relativa en el BM, con las 10 especies más representativas (n= 496)

Estructura diamétrica

Tabla 2 (a): Valores medios y desviación estándar del diámetro (DAP), diámetro de copa y altura y registrados para la parcela del BNM

DAP (cm)	Altura (m)	Diámetro de copa (m)
22,55 +16,11	14,83 +6,56	6,41 +3,54

Tabla 2 (b): Valores medios y desviación estándar del diámetro (DAP), diámetro de copa y altura registrados para la parcela del BM

DAP (cm)	Altura (m)	Diámetro de copa (m)
16,11 ±6,11	8,38 ± 2,53	4,77 ± 2,30

En el BNM fueron registrados individuos en clases diamétricas hasta 1.40 m, mientras que en el BM se registraron individuos en clases inferiores a 60.1 cm

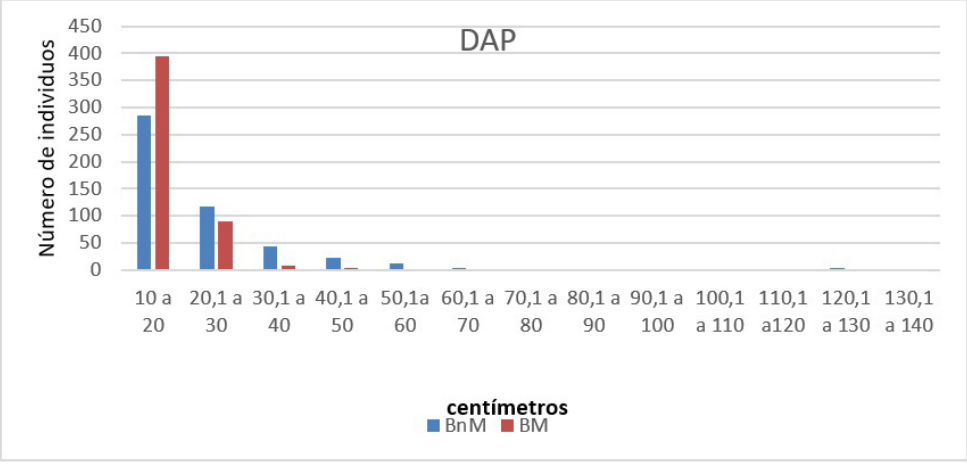


Figura 5: Distribución de individuos por clase diamétrica en el BNM y el BM

Índices de diversidad y similitud

Tabla 3: Valores de los índices de riqueza de especie de Margalef y Menhinick, para ambas parcelas

Parcela	Nro de árboles	Riqueza de especies	Índice de Margalef	Índice de Menhinick
BNM	496	57	9,02	2,56
BM	498	50	7,89	2,24

Tabla 4: Valores de índices de diversidad basado en la riqueza de especies según Shannon-Wiener y Simpson

Parcela	Índice de Shannon- Wiener (*H´*)	Uniformidad de Shannon (E)	Índice de dominancia de Simpson (D*Si*)
BNM	3,23	0,80	0,94
BM	3,34	0,85	0,95

Similitud

Tabla 5: Similitud entre la diversidad de especies de ambas parcelas estudiadas según los índices de Jaccard, Sorensen y Morisita-Horn

Índice de Jaccard (Cj)	Coeficiente de Sorensen (Cs)	Índice de Morisita-Horn (CMH)
0,43	0,60	0.54

El resultado obtenido en la Prueba t de Hutcheson señala que no existen diferencias significativas en la diversidad de especies entre las dos parcelas (p=0.086).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

De los estudios florísticos y forestales en las unidades de conservación de Itaipú Binacional lado paraguayo, se tienen registros desde principios de la década de 1990, con trabajos presentados por expertos (Romero Pereira y Pérez-Chena, s/f). En los mismos, se menciona que unas 262.407 ha correspondían a la vegetación natural y que los bosques ocupaban más de 200.500 ha. Las especies encontradas en ese período son similares a las encontradas en ambas parcelas y son típicas de los bosques húmedos semicaducifolios de la ecorregión Alto Paraná y que aparecen hoy en remanentes de bosques en los departamentos de Canindeyú, Caazapá, entre otros ejemplos de dichas especies son: *Balfourodendron riedelianum*, *Cedrela fissilis*, *Cordia trichotoma*, *Chrisophyllum gonocarpum*, *Holocalyx balansae*, *Syagrus romanzoffiana* y *Handroanthus heptaphyllus*, especies típicas de los bosques húmedos y semi-caducifolios. también conocidos como bosques paranaenses (Mereles, 2007) y acorde con lo determinado por Stutz de Ortega (1986), se trata de un bosque denso del tipo húmedo y semi-caducifolio, cuyo estrato arbóreo y arbustivo son similares a los estudiados por Stutz (1983), con componentes tales como: *Myrocarpus frondosus*, *Cedrela fissilis*, *Chrysophyllum gonocarpum*, *Syagrus romanzoffiana*, *Peltophorum dubium*, *Ocotea dyospirifolia*, *Nectandra megapotamica*, *Balfourodendron riedelianum*, *Diatenopterix sorbifolia*, *Cordia ecalyculata*, *Cabralea canjerana*, entre las más comunes.

La vegetación original del área boscosa de la Reserva Itabó, dentro del complejo Bosque Atlántico, ha sido reducida en gran parte y debido a su rica diversidad ha sido reconocida como un

Hotspots (Galindo y Gusmao da Cámara, 2003). No se tiene idea de las cifras de endemismos que pueden haber desaparecido por la gran pérdida de áreas boscosas que podrían haber albergado a alguna de estas especies. Según lo que se puede apreciar en los últimos reportes sobre endemismos para el Paraguay, la presencia de estos últimos se centra básicamente en las comunidades vegetales de los "Cerrados" en los departamentos de Concepción y Amambay, (González Parini, 2005; Peña-Chocarro y De Egea, 2018).

Los resultados de la estructura diamétrica señalan historias de uso diferentes entre ambos bosques. Tanto el BnM y BM mostraron una distribución de J invertida, lo que indica que el número de individuos desciende a medida que aumentan las medidas en el diámetro. Este tipo de distribución se asocia a una regeneración continua, donde la densidad de individuos en las categorías más pequeñas pueden considerarse suficientes para reemplazar a las clases diamétricas mayores, siendo esto un indicador de sustentabilidad para diversos tipos de bosques (Rubin *et al*., 2006).

Sumado a este tipo de distribución, la presencia de árboles en categorías mayores sugiere el bajo grado de alteración también en el BnM. Por otro lado, la escasez de individuos en las clases intermedias y mayores por parte del BM, indicaría una alteración por disturbio, tales como entresaca, incendios, competencia, clima, insectos o enfermedades (Baker, 1996).

Comparando ambas parcelas, BM y BnM, las especies pioneras como *Machaerium stipitatum*, *Muellera campestris*, *Cedrela fissilis*, *Syagrus romanzoffiana* y *Peltophorum dubium*, sugieren que el BM se encuentra en un estado sucesional menos avanzado.

Con respecto a la diversidad específica, el resultado obtenido en la Prueba comparativa t de Hutcheson entre ambas PPM ($p=0.086$) (Cj y Cs), se puede inferir que ambas comparten entre el 43 y 60% de las especies y el índice de similitud basado en la abundancia de cada especie (CMH) señala una similitud del 54%.

Por lo tanto puede concluirse que ambos bosques presentan una diversidad de especies arbóreas bastante similar y que probablemente las diferencias puedan atribuirse a las especies pioneras que han ingresado a causa de la modificación antrópica, al igual que los tipos de suelos que caracterizan a cada una de las parcelas y que condicionan la aparición de unas u otras especies. También se destaca la capacidad natural que tienen los bosques degradados, una vez que los factores de degradación son retirados.

Finalmente, una de las mayores amenazas en este tipo de formaciones vegetales intertrópicos es el cambio climático, pues los bosques son piezas clave en el proceso de equilibrio entre el oxígeno, el anhídrido carbónico y la humedad atmosférica (López, 2016).

AGRADECIMIENTOS

A Itaipú Binacional por el apoyo logístico para la realización del trabajo. Especial agradecimiento a los técnicos del área de flora, Ingenieras Forestales Victoria Kubota y Laura Lombardo, de la Superintendencia de Gestión Ambien-

tal, Dirección de Coordinación Ejecutiva, por todo el apoyo realizado durante la toma de datos del trabajo y la lectura crítica del trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acevedo, C., Fox, J., Gauto, R., Keel, S., Pinazzo, J. Spinzi, L., Sosa, W. y V. Vera. (1990). Áreas Prioritarias para la Conservación en la Región Oriental del Paraguay. Centro de Datos para la Conservación, Dirección de Parques Nacionales y Vida Silvestre, Sub-Secretaría de Recursos Naturales y Medio Ambiente, Ministerio de Agricultura y Ganadería. 99 pp.

Baker, J.B. (1996). Uneven-aged silviculture for the loblolly and shortleaf pine forest cover types. United States Forest Service, Southern Research Station. Monticello, Arkansas. 64 pp.

Balvanera, P. (2012). Los servicios ecosistémicos que ofrecen los bosques tropicales. Ecosistemas 21: 136– 147.

Bennett, A., &Saunders, D. (2010). Habitat fragmentation and landscape change. Conservation Biology for All. Oxford University Press, Nueva York. 92 – 99.

Cartes, J. L. (2000). Strategic Private Effort for the Conservation of Paraguayan Biodiversity. Ecological Tropical Forest Research network news: 31: 25-30.

Cartes, J. L. (2005) (Ed.). El Bosque Atlántico en Paraguay: biodiversidad, amenazas y perspectivas. Asociación Guyra Paraguay, Conservation International (CI) & Center for Applied Biodiversity Science. Asunción. 235 pp.

Casanoves, F.; Pla, L.; y Di Rienzo, J. (2011). Valoración y análisis de la diversidad funcional y su relación con los servicios ecosistémicos. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 77-85.

Costanza, R.; Darge, R.; De Groot, R.; Farber, S.; Grasso, M.; Hannon, B.; Limburg, K.; Naeem,S.; & O'Neill, R. (1997). The value of the world's ecosystem services and natural capital. Nature 6630 (387): 53–260.

Davis, S. D., Heywood, V. H., Herrera-MacBRYDE, O., Villa-Lobos, J. & Hamilton, A. C. (1997). Centre of Plants Diversity: a guide and strategy for their conservation. The Americas 3. WWF-UICN.

De Bello, F., Lavorel, S., Díaz, S., Harrington, R., Cornelissen, J., Bardgett, & R., Berg, M. (2010). Towards an assessment of multiple ecosystem processes and services via functional traits. Biodiversity and Conservation 19:2873-2893.

Di Bitetti, M. S., Placci, G., & Dietz, L. A. (2003). A biodiversity visión for the Upper Parana Atlantic Forest Ecorregion: designinn biodiversity conservation landscape and setting priorities conservation action. WWF – Fundación Vida Silvestre Argentina.

Dinerstein, E., Olson, D. M., Graham, D. J., Webster, A. L., Primm, S. A., Bookbinder, M. P. y Ledeg, G. (1995). Una evaluación del estado

de conservación de las eco-regiones terrestres de América Latina y el Caribe.WWF – World Bank. Washington, D. C. 135 pp.

Eiten, G. (1974). An outline of the vegetation of South America.5th. Symp. Congr. Int. Primatol. Soc. 529-545.

Fundacion Moises Bertoni. (1994). Datos de la flora del BAAPA no publicados, inéditos. Fundación Moisés Bertoni, Asunción.

Galindo-Leal, C. & Gusmao Da Camara, I. de. (2003). The Atlantic Forest of South America: biodiversity, status, threats, and Outlook. Center for Applied Biodiversity Science. Conservation International. States of the Hotspots series. Washington, Covelo, London. Island Press. 372-380.

Gonzalez Parini, H. (2005). Contribución al conocimiento de las plantas endémicas y amenazadas de la zona Este y Noreste del Paraguay oriental. En: CARTES, J. L., El Bosque Atlántico en Paraguay. Biodiversidad, Amenazas y Perspectivas. 91-104.

Hoffmann, M., Hilton, C., Angulo, A., Bôhm, M., Broks, T.M; Butchart, S.H; & Carpenter, K.E. (2010). The impact of Conservation on the Status of the World's Vertebrates. Science 330:1503-1509.

ITAIPU. (2016). Reserva Natural Itabó Plan de Manejo 2017 – 2021. Asunción, Paraguay.140 pp.

Keel. S., Gentry, A. H. & Spinzi, L. (1993). Using vegetation analysis to facilitate the selection of conservation sites in Eastern Paraguay. Conservation Biology 7: 66-75.

Lamprecht, H. (1990). Silvicultura en los trópicos: los ecosistemas forestales en los bosques tropicales y sus especies arbóreas: posibilidades y métodos para un aprovechamiento sostenido. Asociación Técnica Alemana (GTZ). Eschborn.198 pp.

Lopez, J. A., Little, E., Ritz, G. F., Rombold, J. S. y Hahn, W. (1987). Árboles comunes del Paraguay. Ñande Ybyra Mata Kuera. Cuerpo de Paz, Paraguay. 425 pp.

López, M. J., Elizeche, K., Parra, A. y Rodas, O. (2016). Los bosques y el Cambio Climático. En: Aquino, L., Balbuena, C. y Monte Domeq, F., El Cambio Climático, los bosques y las medidas para reducir las emisiones provenientes de la deforestación. Wordl Wildlife Funf (WWF, filial Paraguay), Proyecto ParLu, Ministerio Federal del Ambiente, Conservación de la Naturaleza y Salvaguarda Nuclear de Alemania. 113 pp.

Martín-López, B., Gómez-Baggethun, E., González, J., Lomas, P., & Montes, C. (2009). The assessment of ecosystem services provided by biodiversity: re-thinking concepts and research needs, En: Aronoff, J.B. (ed). Handbook of Nature Conservation: Global, Environmental and Economic Issues. Nova Science Publishers, New York. 261–282

Margalef, R. (1969). Ecología. Ed. Omega, S. A. Barcelona. 901 pp.

Mereles, F. (2004). Una contribución

al conocimiento de las formaciones vegetales de dos cuencas en la región oriental del Paraguay: descripción y estado de conservación. Rojasiana 6(1): 43-70.

Mereles, F. (2007). Diversidad vegetal en el Paraguay. En: Salas – Dueñas, D.& Facetti, J. Biodiversidad del Paraguay: una aproximación a sus realidades.Fundación Moisés Bertoni. Asunción. 89 - 90 pp.

Mori, S. A., Boom, B. M. & Prance, G. T. (1981). Distributions patterns and conservation of Eastern Braziliab coastal forest tree species. Brittonia 33: 233-245.

Peña-Chocarro, M. C. & De Egea, J. (2018). Checklist of the endemic vascular plants of Paraguay. Phytotaxa 384: 74 pp.

Romero Pereira, C. y Pérez-Chena, D. s/f. Estudios florísticos en la margen derecha del río Paraná, área de Itaipú. 1er. Seminario de la Itaipú Binacional sobre Medio Ambiente. Itaipú Binacional. 115-129.

Rubin, B.D., Manion, P.D., Faber-Langendoen, D. (2006). Diameter distributions and structural sustainability in forests. For. Ecol. Managment. 222: 427-438.

Salgado, B. (2015). La ecología funcional como aproximación al estudio, manejo y conservación de la biodiversidad: protocolos y aplicaciones. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá. 10 pp.

Smith, T.B., Wayne, R. K., Girman, D. J. & Bruford, M. W. (1997). A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. Science 276. 1855-1857.

Stutz, L. (1983). Etudes floristiques de divers stades secondaires des formations forestieres du Hout Parana (Paraguay oriental): Inventaire floristique d'une reserve forestiere. Candollea 38: 541-573.

Stutz De Ortega, L. (1986). Etudes floristiques de divers stades des formations forestieres du Hout Parana (Paraguay oriental): Floraison, fructification et dispersion des espéces forestieres. Candollea 41(1): 121-144.

Análisis computacional de la interacción *in silico* de la Agatisflavona con la región de trimerización de la proteína espícula (S) del SARS-CoV-2

Gayozo, E.[1*]; Rojas, L.[2]; López, M.[3]
[1]Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, San Lorenzo – Paraguay
[2]Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Microbiología Industrial, San Lorenzo – Paraguay
[3]Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Biotecnología, San Lorenzo – Paraguay
*E-mail del autor: elviologo@gmail.com

Análisis computacional de la interacción *in silico* de la Agatisflavona con la región de trimerización de la proteína espícula (S) del SARS-CoV-2. La glicoproteína de la espícula (S) es una de las proteínas más importantes para el virus SARS-CoV-2 porque cumple un rol fundamental en etapas iniciales de la infección viral y es considerado un blanco molecular importante para el desarrollo de nuevos fármacos o vacunas. En este estudio se reporta la interacción *in silico* del biflavonoide Agatisflavona con la proteína S del SARS-CoV-2. Para ello se llevaron a cabo pruebas de acoplamiento molecular entre la Agatisflavona y la espícula S en diferentes conformaciones (abierta y cerrada) a modo de determinar y caracterizar los sitios de interacción y los residuos implicados. Los resultados obtenidos sugieren que la Agatisflavona presenta mayores afinidades de unión por el sitio de trimerización del homotrímero viral, con valores favorables de energía unión (ΔGb) de -10,21±0,52 kcal.mol^{-1} y -11,19±0,16 kcal.mol^{-1}. Estos hallazgos sugieren que la presencia del biflavonoide en interacción con la región de trimerización podría también actuar como bloqueante del ensamblaje de la espícula en su estructura cuaternaria pudiendo interferir con el ciclo replicativo viral, por lo tanto, la Agatisflavona puede ser considerada para estudios experimentales.
Palabras claves: Glicoproteína S, interacción molecular, COVID-19, biflavonoide

Computational analysis of the *in silico* interaction of Agathisflavone with the trimerization region of the spike protein (S) of SARS-CoV-2. The spicule (S) glycoprotein is one of the most important proteins for SARS-CoV-2 virus because it plays a critical role in early stages of viral infection and is considered an important molecular target for the development of new drugs or vaccines. In this study we report *in silico* interaction of the biflavonoid Agathisflavone with the S protein of SARS-CoV-2. For this purpose, molecular docking tests were carried out between Agathisflavone and the spike protein in different conformations (open and closed) in order to determine and characterize the interaction sites and residues involved. Results obtained suggest that Agathisflavone exhibits higher binding affinities for the trimerization site of the viral homotrimer, with favorable binding energy (ΔGb) values of -10.21±0.52 kcal.mol^{-1} and -11.19±0.16 kcal.mol^{-1}. These findings suggest that the presence of the biflavonoid in interaction with the trimerization region could also act as a blocker of the assembly of the spike into its quaternary structure and could interfere with the viral replicative cycle, therefore, Agathisflavone can be considered for experimental studies.
Keywords: Glycoprotein S, molecular interaction, COVID-19, biflavonoid

Steviana, Vol. 12 (2), 2020 pp. 70- 80
Original recibido el 21 de diciembre de 2020
Aceptado el 26 de diciembre de 2020

INTRODUCCIÓN

Las plantas son fuentes naturales de sustancias bioactivas, muchas de ellas con capacidades antivirales, por ello son ampliamente estudiadas con la finalidad de encontrar nuevas moléculas con potencial farmacológico (Shakya, 2016). La Agatisflavona es un biflavonoide que se encuentra en especies regionales como *Caesalpinia pyramidalis*, *Ouratea semiserrata*, *Ouratea hexasperma*, *Ouratea polyantha*, *Anacardium occidentale* y *Araucaria bidwillii*, y ha presentado antecedentes de actividades antivirales contra la Influenza A (H1N1, H3N2), Influenza B, Adenovirus tipo V, virus de la Parainfluenza tipo III, virus sincitial respiratorio, virus del Herpes (HSV-1, HSV-2, HCMV, VZV) y virus del Dengue (DENV2, DENV3) (Islam *et al*., 2019). Se ha descrito que la misma es capaz de interactuar con varias proteínas virales de forma no competitiva inhibiendo de esta manera la actividad de las mismas (de Freitas *et al*., 2020; de Sousa *et al*., 2015; Islam *et al*., 2019; Lin *et al*., 1999).

Recientemente, Lokhande *et al*. (2020) han descrito en un estudio computacional las afinidades de interacción que presenta los biflavonoides de la *Rhus succedanea* por el sitio catalítico de la proteasa del virus SARS-CoV-2, entre estos los que demostraron resultados favorables de interacción fueron la Agatisflavona y la Amentoflavona.

Una de las proteínas más importantes del SARS-CoV-2 es la glicoproteína de la espícula (S), considerada una proteína de fusión homotrimérica de tipo I, que se encuentra conformada por tres cadenas (A, B, C) que interaccionan entre sí (trimerización) para revelar en su estructura dos dominios (S1 y S2) (Bosch *et al*., 2003; Li, 2016). En el dominio S1 encontramos al segmento más importante de la proteína viral que es el RBD (dominio de unión al receptor) y el dominio N-terminal (NTD); en el dominio S2 se localizan en conjunto los dominios FP (péptido de fusión), HR1 (repetición heptad 1), HR2 (repetición heptad 2), CH (hélice central), CD (dominio conector), TM (dominio transmembranoso) y el dominio C-terminal (CTD) (Beniac *et al*., 2006; Li, 2016; Wrapp *et al*., 2020).

Uno de los procesos fundamentales en la infección del SARS-CoV-2 a las células humanas es el reconocimiento entre la glicoproteína de la espícula (dominio RBD) y la proteína ACE2 (Enzima Conversora de Angiotensina 2), específicamente con el dominio PD (dominio peptidasa) de la futura célula hospedera (Lan *et al*., 2020). Posteriormente se da lugar al clivaje de la glicoproteína encaminándose a la estructura postfusión, seguido de la internalización del virus al citoplasma de la célula infectada para luego continuar con el proceso de replicación viral (Wrapp *et al*., 2020; Yan *et al*., 2020).

Debido al importante rol que cumple esta glicoproteína, se ha convertido en uno de los blancos fundamentales para la comunidad científica en la búsqueda y desarrollo de vacunas o potenciales fármacos/moléculas bioactivas con capacidades antivirales (Sternberg y Naujokat, 2020). La interacción de proteínas (anticuerpos) o moléculas pequeñas podrían neutralizar a la espícula viral, interferir con la unión receptor-ligando, desesta-

bilizar a la estructura de la glicoproteína viral o bloquear su maduración (trimerización), y por lo consiguiente lograr disminuir o contener la carga replicativa del virus en el infectado mediante el impedimento del proceso de reconocimiento virus-células hospederas (Bongini *et al*., 2020; Fakih, 2020; Sternberg y Naujokat, 2020; Toelzer *et al*., 2020; Vankadari, 2020).

En este estudio se registra *in silico* las afinidades de interacción de la Agatisflavona por el sitio de trimerización de la espícula S del SARS-CoV-2, tanto en las conformaciones abierta y cerrada del dominio RBD los cuales presentan los cambios conformaciones en la estructura proteica. Por lo que la misma podría bloquear o afectar al proceso de trimerización de la proteína viral. Se espera con esta investigación poder contribuir con la búsqueda y desarrollo de nuevas terapias que ayuden a combatir a la COVID-19.

MATERIALES Y MÉTODOS

Acoplamiento molecular entre la Agatisflavona y la espícula del SARS-CoV-2

Se empleó el diseño metodológico descrito en el esquema de la Figura 1. Primeramente, se realizó la identificación de los sitios drogables presentes en la región de trimerización de la espícula viral del SARS-CoV-2 en sus diferentes conformaciones de la glicoproteína (ectodominio RBD abierto y cerrado) (PDB: 6VSB, 6VXX respectivamente) para ello se empleó la herramienta DoGSiteScorer (Volkamer *et al*., 2012).

La estructura molecular de la glicoproteína S del SARS-CoV-2 en sus conformaciones del ectodominio RBD abierto y cerrado (PDB: 6VSB, 6VXX) fueron obtenidas de la base de datos Protein Data Bank (Berman *et al*., 2000). Se eliminaron estructuras químicas que no fueran de naturaleza proteica (agua, iones), empleando el programa Discovery Studio Visualizer v. 20 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2019).

La estructura molecular de la Agatisflavona (CID: 5281599) se obtuvo de la base de datos PubChem (Kim *et al*., 2016). Se procedió a aplicar campo de fuerza UFF (Universal Force Field) y el algoritmo de optimización de gradientes conjugados a la estructura de la Agathisflavona. Posteriormente, se proporcionaron cargas parciales a las estructuras teniendo en cuenta los átomos de hidrógeno (H) polares presentes a pH fisiológico de 7,4, para esto se empleó el programa Avogadro (Hanwell *et al*., 2012).

Las pruebas de acoplamiento molecular del tipo proteína-ligando entre la proteína S del SARS-CoV-2 (RBD abierto, cerrado) y la molécula de Agatisflavona fueron realizadas en una grilla de acoplamiento de 119x120x169 $Å^3$ y 119x125x158 $Å^3$ respectivamente, estas se llevaron a cabo de forma exhaustiva (exhaustividad=20) en un total de cincuenta repeticiones empleando el programa AutoDock Vina (Trott y Olson, 2010).

La visualización y el análisis de los modelos resultantes de las pruebas de acoplamiento se llevaron a cabo utilizando el programa Discovery Studio Visualizer v. 20 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2019).

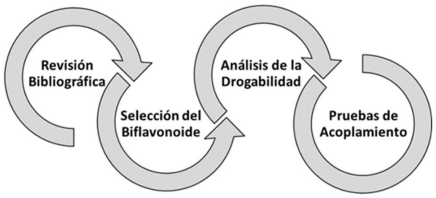


Figura 1. Esquema metodológico del estudio

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de sitios drogables presentes en la región de trimerización reveló la presencia de un sitio altamente drogable con puntajes de drogabilidad de entre 0,80-0,81 con un volumen promedio de 3536,71 $Å^3$, superficie de 3624,07 $Å^2$ y una profundidad de 38,85 Å, contra el cual se dirigieron los ensayos computacionales de acoplamiento molecular.

Las pruebas de acoplamiento entre la Agatisflavona y la proteína S del SARS-CoV-2 con el ectodominio RBD abierto evidenciaron que el biflavonoide presenta afinidad de unión por el dominio S2 de la proteína S (Figura 2A, B). Se revelaron tres modos de acoplamiento molecular en sitios diferentes en la proteína viral, sin embargo, el más favorable fue el primer modelo que presentó el valor de la energía de unión (ΔGb) igual a -10,21±0,52 $kcal.mol^{-1}$.

Los otros dos modelos restantes de interacción presentaron energías de acoplamiento iguales a -9,85±0,34 $kcal.mol^{-1}$ y -9,71±0,31 $kcal.mol^{-1}$, los cuales son ligeramente mayores a lo observado en el modelo más favorable. Este último exhibió afinidades de interacción por el sitio de trimerización de la proteína viral, específicamente por residuos de la cadena A y cadena B, lo cual permite su localización en el mencionado sitio (Figura 2C, D).

Se registró la participación activa de los residuos Gln1010, Arg1014 y Gln954 presentes en la cadena A, y de los residuos Arg765, Glu773 y Lys776 de la cadena B de la proteína viral (Figura 2E).

Se registró la formación de puentes de hidrógeno entre la Agatisflavona y los residuos Gln1010(A), Gln954(A) y Glu773(B). Se pudo identificar la formación de interacciones electrostáticas entre la Agatisflavona y el residuo Lys776(B) (interacciones del tipo Pi-Catión) y con el residuo Glu773(B) (interacciones del tipo Pi-Anión).

También se observó la formación de interacciones hidrofóbicas entre enlaces Pi y cadenas de alquilo de los residuos Arg1014(A) y Arg765(B). El sitio bolsillo del acoplamiento se conforma por la Ile1013(A), Glu1017(A), Asp950(A), Gly769(B), Ile770(B), Val772(B), Leu-1012(B) y Arg1019(B).

Las pruebas de acoplamiento molecular realizadas entre la Agatisflavona y la glicoproteína S con la conformación cerrada del dominio RBD evidenciaron también afinidades por el dominio S2 de la proteína viral, específicamente por las cadenas A, B y C (Figura 3A, B).

Se registró la formación de tres modos de acoplamientos con diferentes sitios de interacción con la proteína viral. El modelo más favorable de acoplamiento presentó el menor valor de energía de unión igual a -11,19±0,16 $kcal.mol^{-1}$, donde la Agatisflavona exhibió afinidades por residuos presentes en las cadenas B y C (Figura 3C, D).

Los otros modos presentaron valores

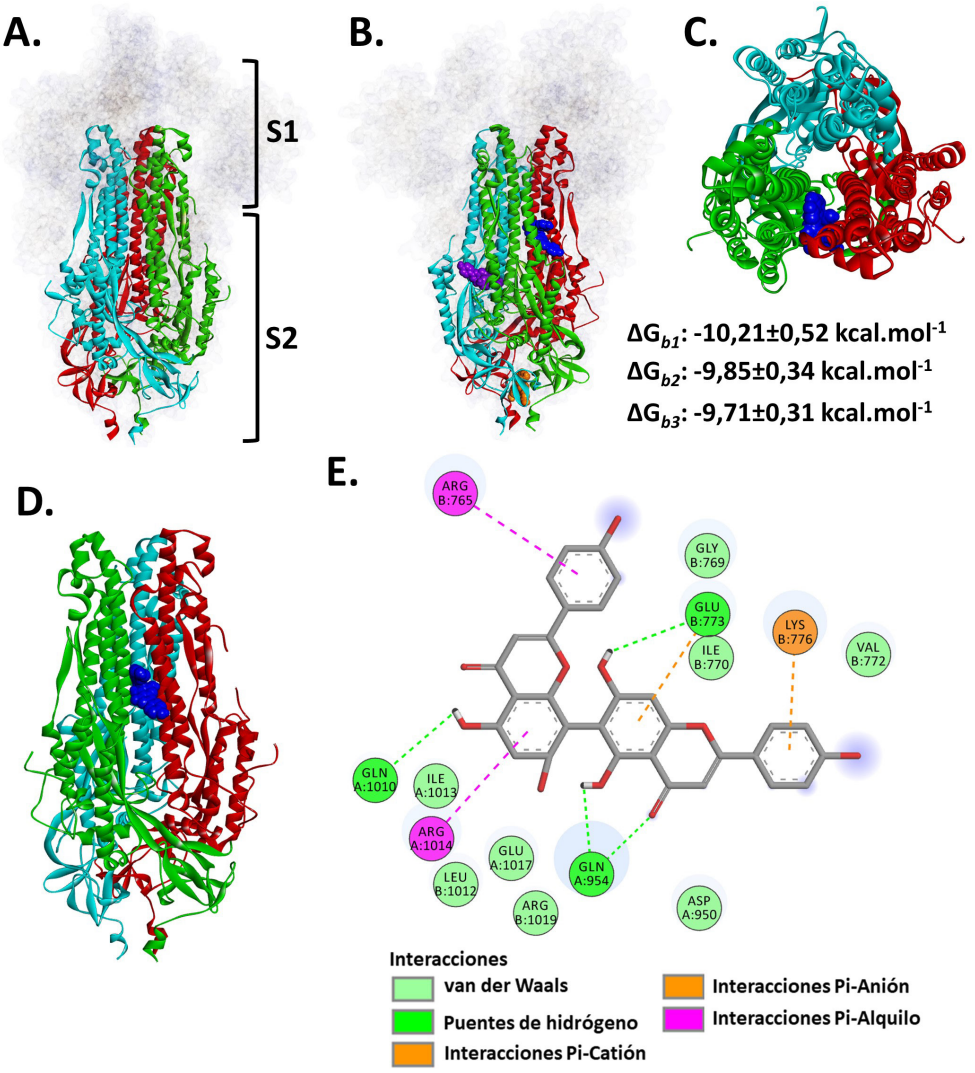


Figura 2. Sitio de unión de la Agatisflavona en la glicoproteína S del SARS-CoV-2 en conformación del ectodominio RBD abierto. A. Representación tridimensional del sitio de trimerización de la proteína S del virus. Verde: Cadena A, Rojo: Cadena B, Cian: Cadena C, Dominios S1 y S2. B. Modo de acoplamiento molecular de la Agatisflavona, sitio 1: modelo azul, sitio 2, modelo naranja, sitio 3: modelo lila, ΔGb: energía libre de unión. C, D. Vista superior y lateral del sitio más favorable de interacción de la Agatisflavona (modelo azul). E. Representación bidimensional del modelo de acoplamiento más favorable. A: Cadena A, B: Cadena B

de energía libre de unión de -10,92±0,10 kcal.mol^{-1} y -10,45±0,20kcal.mol^{-1}. Los residuos activos involucrados en el acoplamiento fueron Ala1020, Pro728, Glu1017, Lys947, Gln954 y Leu1024 de la cadena B y los residuos Asn1023, Lys776 de la cadena C. Se detectó la formación de puentes de hidrógeno entre la Agatisflavona y los residuos Gln954(B), Lys947(B) y Asn1023(C).

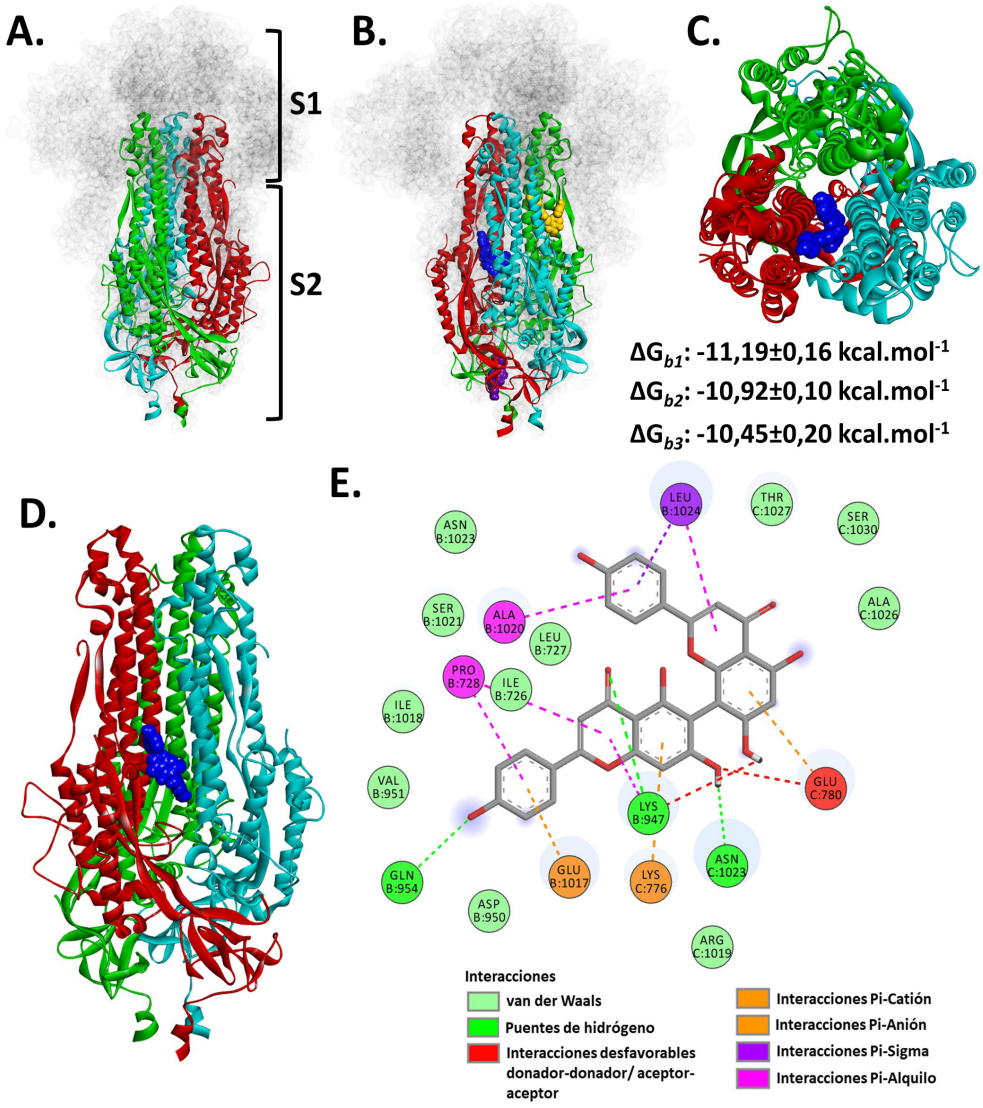


Figura 3. Sitio de unión de la Agatisflavona en la glicoproteína S del SARS-CoV-2 en conformación del ectodominio RBD cerrado. **A.** Representación tridimensional del sitio de trimerización de la proteína S del virus. Verde: Cadena A, Rojo: Cadena B, Cian: Cadena C, dominios S1 y S2. **B.** Sitios de acoplamiento de la molécula Agatisflavona, sitio 1: modelo azul, sitio 2, modelo naranja, sitio 3: modelo lila, ΔGb: energía libre de unión. **C, D.** Vista superior y lateral del sitio favorable de interacción de la Agatisflavona (modelo azul). **E.** Representación bidimensional del modelo de acoplamiento más favorable. B: Cadena B, C: Cadena C

También se identificó la formación de interacciones electrostáticas entre la Agatisflavona y los residuos Glu1017(B) (interacción Pi-Anión) y Lys776(C) (interacción Pi-Catión). Además de la formación de interacciones hidrofóbicas

entre la molécula Agatisflavona y los residuos Ala1020(B), Pro728(B) (interacciones Pi-Alquilo) y Leu1024(B) (interacciones Pi-Alquilo, interacciones Pi-Sigma). Es importante destacar también que se identificó la existencia de interacciones desfavorables con el residuo Glu780(C). El sitio bolsillo de interacción se conforma por los residuos Asn1023(B), Ser1021(B), Leu727(B), Ile726(B), Ile1018(B), Val951(B), Asp950(B), Arg1019(C), Ala1026(C), Ser1030(C) y Thr1027(C) las cuales probablemente interaccionan mediante fuerzas de van der Waals con la Agatisflavona (Figura 3E).

Numerosos estudios han sido reportados en los últimos meses, todos ellos enfocados en la comprensión de los mecanismos de infección del SARS-CoV-2 y en la búsqueda de moléculas o fármacos con posibles actividades antivirales, muchos de ellos teniendo como blanco de acción a la glicoproteína S del virus, el cual es fundamental para la virulencia y fácil transmisión (Hall y Ji, 2020; Li, 2016; Pandey *et al*., 2020; Wrapp *et al*., 2020).

Varios estudios presentan resultados con moléculas de origen natural (vegetal en su mayoría) y fármacos ya existentes en el mercado en los que se demuestra la inhibición de la función del ectodominio RBD de la proteína S, debido principalmente a los efectos neutralizantes mediante la interferencia del reconocimiento entre el dominio RBD y la proteína ACE2, y de esta manera la disminución en gran medida del éxito en la replicación del SARS-CoV-2 en las células hospederas (Baig *et al*., 2020; Elfiky, 2020; Fakih, 2020; Kulkarni *et al*., 2020; Prasanth *et al*., 2020; Sinha *et al*., 2020; Subbaiyan *et al*., 2020).

Además de neutralizar la acción de la proteína S del SARS-CoV-2 también desestabilizar o bloquear la trimerización de la espícula sería una estrategia en el que se ha visto buenos resultados con otras proteínas virales, como es el caso de la proteína Hemaglutinina (HA) H3N2 del virus de la Influenza (Kadam y Wilson, 2017).

Recientemente, Bongini *et al*. (2020) sugieren buscar compuestos que puedan bloquear el ensamblaje de la espícula del SARS-CoV-2 a su estructura cuaternaria como posible estrategia para luchar contra el virus, ya que el bloqueo de la trimerización de la proteína interfiere con el éxito del ciclo replicativo viral. Vankadari (2020) en un estudio computacional llevado a cabo con la molécula Arbidol, evidenció que esta podría presentar los mismos efectos en la proteína S del SARS-CoV-2 (RBD en configuración abierta) que con lo descrito en la proteína HA del virus de la Influenza. El autor menciona que el Arbidol podría actuar bloqueando a la trimerización de la glicoproteína viral, teniendo como blanco de interacción residuos presentes en los sitios de trimerización de las cadenas A, B y C de la proteína S.

A su vez en este estudio, se demostró que el biflavonoide Agatisflavona podría presentar mismos efectos que el Arbidol, ya que esta molécula también exhibe afinidades por los sitios de trimerización entre cadenas de la proteína S viral, lo cual podría mantenerse durante los cambios conformacionales que podrían sufrir la espícula viral (RBD abierto-cerrado). Los residuos activos implicados

en dichas interacciones fueron Gln1010, Arg1014, Gln954, Arg765, Glu773, Lys776 en la conformación abierta del ectodominio RBD, y los residuos Ala1020, Pro728, Glu1017, Lys947, Gln954, Leu1024, Asn1023 y Lys776 en la conformación cerrada del ectodominio RBD. Algunos de estos residuos observados fueron los mismos descritos en la interacción con la molécula de Arbidol (Lys776, Lys947, Asn1023 y Leu1024) (Vankadari, 2020).

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la Agatisflavona, presente en varias especies vegetales de la región, con importantes actividades antivirales y con capacidades de interacción no competitivas con proteínas virales (Abu-Reida *et al*., 2014; de Freitas *et al*., 2020; de Sousa *et al*., 2015; Islam *et al*., 2019; Lin *et al*., 1999), podría afectar a la trimerización de la glicoproteína S del SARS-CoV-2, probablemente bloqueando o impidiendo dicho evento, pudiendo ser considerada por ello como una fuente potencial de desarrollo terapéutico para la COVID-19. Sin embargo, se recomienda llevar a cabo ensayos *in vitro* haciendo un seguimiento de la trimerización y del ensamblaje de la estructura cuaternaria de la espícula viral a modo de confirmar estas observaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abu-Reida, I. M., Jamous, R. M., & Ali-Shtayeh, M. S. (2014). Phytochemistry, Pharmacological Properties and Industrial Applications of Rhus coriaria L. (Sumac). Jordan Journal of Biological Sciences, 147(1573), 1-12. https://doi.org/10.12816/0008245.

Baig, A. M., Khaleeq, A., & Syeda, H. (2020). Docking Prediction of Amantadine in the Receptor Binding Domain of Spike Protein of SARS-CoV-2. ACS Pharmacology and Translational Science, 3(6). https://doi.org/10.1021/acsptsci.0c00172.

Beniac, D. R., Andonov, A., Grudeski, E., & Booth, T. F. (2006). Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. Nature Structural & Molecular Biology, 13(8), 751-752. https://doi.org/10.1038/nsmb1123.

Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The Protein Data Bank. Nucleic Acids Research, 28(1), 235-242. https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235.

Bongini, P., Trezza, A., Bianchini, M., Spiga, O., & Niccolai, N. (2020). A possible strategy to fight COVID-19: Interfering with spike glycoprotein trimerization. Biochemical and Biophysical Research Communications, 528(1), 35-38. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.04.007.

Bosch, B. J., Zee, R. van der, Haan, C. A. M. de, & Rottier, P. J. M. (2003). The Coronavirus Spike Protein Is a Class I Virus Fusion Protein: Structural and Functional Characterization of the Fusion Core Complex. Journal of Virology, 77(16), 8801-8811. https://doi.org/10.1128/JVI.77.16.8801-8811.2003.

Dassault Systèmes BIOVIA. (2019). Discovery Studio Visualizer, version 20.1, San Diego: Dassault Systèmes.

de Freitas, C. S., Rocha, M. E. N., Sacramento, C. Q., Marttorelli, A., Ferreira, A. C., Rocha, N., de Oliveira, A. C., de Oliveira Gomes, A. M., dos Santos, P. S., da Silva, E. O., da Costa, J. P., de Lima Moreira, D., Bozza, P. T., Silva, J. L., Barroso, S. P. C., & Souza, T. M. L. (2020). Agathisflavone, a Biflavonoid from Anacardium occidentale L., Inhibits Influenza Virus Neuraminidase. Current Topics in Medicinal Chemistry, 20(2), 111-120. https://doi.org/10.2174/1568026620666191219150738.

de Sousa, L. R. F., Wu, H., Nebo, L., Fernandes, J. B., da Silva, M. F. das G. F., Kiefer, W., Kanitz, M., Bodem, J., Diederich, W. E., Schirmeister, T., & Vieira, P. C. (2015). Flavonoids as noncompetitive inhibitors of Dengue virus NS2B-NS3 protease: Inhibition kinetics and docking studies. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 23(3), 466-470. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.12.015.

Elfiky, A. A. (2020). Natural products may interfere with SARS-CoV-2 attachment to the host cell. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 0(0), 1-10. https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1761881

Fakih, T. (2020). Dermaseptin-Based Antiviral Peptides to Prevent COVID-19 through In Silico Molecular Docking Studies against SARS-CoV-2 Spike Protein. Pharmaceutical Sciences & Research, 7(4). https://doi.org/10.7454/psr.v7i4.1079.

Hall, D. C., & Ji, H.-F. (2020). A search for medications to treat COVID-19 via in silico molecular docking models of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein and 3CL protease. Travel Medicine and Infectious Disease, 35, 101646. https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101646.

Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. Journal of Cheminformatics, 4(1), 17. https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17.

Islam, M. T., Zihad, S. M. N. K., Rahman, M. S., Sifat, N., Khan, M. R., Uddin, S. J., & Rouf, R. (2019). Agathisflavone: Botanical sources, therapeutic promises, and molecular docking study. IUBMB Life, 71(9), 1192-1200. https://doi.org/10.1002/iub.2053.

Kadam, R. U., & Wilson, I. A. (2017). Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. Proceedings of the National Academy of Sciences, 114(2), 206-214. https://doi.org/10.1073/pnas.1617020114.

Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B. A., Wang, J., Yu, B., Zhang, J.,

& Bryant, S. H. (2016). PubChem Substance and Compound databases. Nucleic Acids Research, 44(D1), D1202-D1213. https://doi.org/10.1093/nar/gkv951.

Kulkarni, S. A., Nagarajan, S. K., Ramesh, V., Palaniyandi, V., Selvam, S. P., & Madhavan, T. (2020). Computational evaluation of major components from plant essential oils as potent inhibitors of SARS-CoV-2 spike protein. Journal of Molecular Structure, 1221, 128823. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128823.

Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., Zhang, Q., Shi, X., Wang, Q., Zhang, L., & Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. Nature, 581(7807), 215-220. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5.

Li, F. (2016). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. Annual Review of Virology, 3(1), 237-261. https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042301.

Lin, Y.-M., Flavin, M. T., Schure, R., Chen, F.-C., Sidwell, R., Barnard, D. I., Huffmann, J. H., & Kern, E. R. (1999). Antiviral Activities of Biflavonoids. Planta Medica, 65(2), 120-125. https://doi.org/10.1055/s-1999-13971.

Lokhande, K., Nawani, N., K. Venkateswara, S., & Pawar, S. (2020). Biflavonoids from Rhus succedanea as probable natural inhibitors against SARS-CoV-2: A molecular docking and molecular dynamics approach. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 0(0), 1-13. https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1858165.

Pandey, P., Rane, J. S., Chatterjee, A., Kumar, A., Khan, R., Prakash, A., & Ray, S. (2020). Targeting SARS-CoV-2 spike protein of COVID-19 with naturally occurring phytochemicals: An in silico study for drug development. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 0(0), 1-11. https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1796811.

Prasanth, D. S. N. B. K., Murahari, M., Chandramohan, V., Panda, S. P., Atmakuri, L. R., & Guntupalli, C. (2020). In silico identification of potential inhibitors from Cinnamon against main protease and spike glycoprotein of SARS CoV-2. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 0(0), 1-15. https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1779129.

Shakya, A. K. (2016). Medicinal plants: Future source of new drugs. International Journal of Herbal Medicine, 4(4), 59-64.

Sinha, S. K., Prasad, S. K., Islam, M. A., Gurav, S. S., Patil, R. B., AlFaris, N. A., Aldayel, T. S., AlKehayez, N. M., Wabaidur, S. M., & Shakya, A. (2020). Identification of bioactive compounds from Glycyrrhiza glabra as possible inhibitor of SARS-CoV-2 spike glycoprotein and non-structural protein-15: A pharmacoinformatics study. Journal of Biomolecu-

lar Structure and Dynamics, 0(0), 1-15. https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1779132.

Sternberg, A., & Naujokat, C. (2020). Structural features of coronavirus SARS-CoV-2 spike protein: Targets for vaccination. Life Sciences, 257, 118056. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118056.

Subbaiyan, A., Ravichandran, K., Singh, S. V., Sankar, M., Thomas, P., Dhama, K., Malik, Y. S., Singh, R. K., & Chaudhuri, P. (2020). In silico molecular docking analysis targeting SARS-CoV-2 Spike protein and selected herbal constituents. Journal of Pure and Applied Microbiology, 14, 989-998. https://doi.org/10.22207/JPAM.14.SPL1.37.

Toelzer, C., Gupta, K., Yadav, S. K. N., Borucu, U., Davidson, A. D., Williamson, M. K., Shoemark, D. K., Garzoni, F., Staufer, O., Milligan, R., Capin, J., Mulholland, A. J., Spatz, J., Fitzgerald, D., Berger, I., & Schaffitzel, C. (2020). Free fatty acid binding pocket in the locked structure of SARS-CoV-2 spike protein. Science, 370(6517), 725-730. https://doi.org/10.1126/science.abd3255.

Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. Journal of Computational Chemistry, 31(2), 455-461. https://doi.org/10.1002/jcc.21334.

Vankadari, N. (2020). Arbidol: A potential antiviral drug for the treatment of SARS-CoV-2 by blocking trimerization of the spike glycoprotein. International Journal of Antimicrobial Agents, 56(2), 105998. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105998.

Volkamer, A., Kuhn, D., Grombacher, T., Rippmann, F., & Rarey, M. (2012). Combining Global and Local Measures for Structure-Based Druggability Predictions. Journal of Chemical Information and Modeling, 52(2), 360-372. https://doi.org/10.1021/ci200454v.

Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C.-L., Abiona, O., Graham, B. S., & McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science, 367(6483), 1260-1263. https://doi.org/10.1126/science.abb2507.

Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y., & Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. Science, 367(6485), 1444-1448. https://doi.org/10.1126/science.abb2762.

Steviana, Vol. 12(2), 2020

CONTENIDO POR SECCIONES

Etnobotánica **5-30**	Conocimientos acerca del uso alimenticio de los frutos de *Cereus lanosus* (Cactaceae) Departamento de Cordillera, Paraguay *Pin, A.; López de Kochalka, N. E.; González, Y.; Britos, L.; Degen, R.*
Fitoquímica **31-54**	Análisis estructural de interacciones *in silico* de fitoconstituyentes de *Solanum americanum*, *Solanum guaraniticum* y *Solanum lycopersicum* con la proteína tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum* *Gayozo, E. & Rojas, L.*
Flora y Vegetación **55-69**	Diversidad de especies vegetales en bosques con distintos grados de perturbación en la Reserva Natural Itabó, Itaipú Binacional, Paraguay *Imas, H.; Silva, H.; Mereles, F.*
Nota breve **70-80**	Análisis computacional de la interacción *in silico* de la Agatisflavona con la región de trimerización de la proteína espícula (S) del SARS-CoV-2 *Gayozo, E.; Rojas, L.; López, M.*