



PERSPECTIVAS DE LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA

12

ISSN: 2683-3107



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE INGENIERÍA

VOLUMEN 7, NÚMERO 12

ENERO - JUNIO 2024

DIRECTORIO

Dra. Silvia Amaya Llano

RECTORA

Dr. Rolando Javier Salinas García

SECRETARIO ACADÉMICO

Dr. Manuel Toledano Ayala

SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y POSGRADO

Lic. Diana Rodríguez Sánchez

DIRECTORA DEL FONDO EDITORIAL UNIVERSITARIO

Dra. María de la Luz Pérez Rea

DIRECTORA DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA

Dr. Juan Carlos Jáuregui Correa

JEFE DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE INGENIERÍA

MDI Jorge Javier Cruz Florín

COORDINADOR DEL DESPACHO DE

PUBLICACIONES FACULTAD DE INGENIERÍA

Perspectivas de la Ciencia y la Tecnología, vol. 7, no. 12, enero-junio 2024, es una publicación semestral editada por la Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas, s/N, Col. Las Campanas, Querétaro, Qro., C. P. 76010, Tel. (442)1921200 ext. 6023, <http://revistas.uaq.mx/index.php/perspectivas>, perspectivasci@uaq.mx. Editor responsable: Juan Carlos Jáuregui Correa, Stephanie Virginia Camacho Gutiérrez, Christopher Alexis Cedillo Jiménez. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2021-81011485000-102, ISSN: 2683-3107, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este Número: Christopher Alexis Cedillo Jiménez, Cerro de las Campanas, s/N, Col. Las Campanas, Querétaro, Qro., C. P. 76010, fecha de última modificación: 31 de enero de 2024.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se autoriza la reproducción total o parcial del contenido, siempre y cuando se atribuya la fuente y se proporcione un enlace al original. Esta obra está bajo Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0).

Esta revista está actualmente indizada en el Directorio de Latindex.



latindex



PERSPECTIVAS DE LA
CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA

COMITÉ EDITORIAL

Dr. Juan Carlos Jáuregui Correa

Universidad Autónoma de Querétaro, México

DIRECTOR

Dr. Christopher Alexis Cedillo Jiménez

Universidad Autónoma de Querétaro, México

Dra. Stephanie Virginia Camacho Gutiérrez

Investigadora independiente, Estados Unidos

M. en C. Marco Antonio Cabrera Rufino

Universidad Autónoma de Querétaro, México

EDITORES RESPONSABLES

COMITÉ ASESOR CIENTÍFICO

Dr. Manuel Toledano Ayala

Universidad Autónoma de Querétaro, México

ÁREA: SISTEMAS EMBEBIDOS

Dra. Marcela Vargas Hernández

Universidad Autónoma de Querétaro, México

ÁREA: BIOSISTEMAS Y BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

Dra. Mónica Ledesma Motolinía

Universidad Autónoma de Puebla, México

ÁREA: FÍSICA E INGENIERÍA DE MATERIALES

Dra. Angélica Godínez-Oviedo

Universidad Autónoma de Querétaro, México

ÁREA: MICROBIOLOGÍA E INOCUIDAD ALIMENTARIA

Dr. Saúl Tovar Arriaga

Universidad Autónoma de Querétaro, México

ÁREA: INTELIGENCIA ARTIFICIAL



EQUIPO EDITORIAL

Lic. Cristian Emanuel Tovar Navarro

Universidad Autónoma de Querétaro, México

DISEÑO EDITORIAL

Sarahí Velasco Hernández

Universidad Autónoma de Querétaro, México

DISEÑO DE PORTADAS

Ing. Soid Ruiz Ramírez

Universidad Autónoma de Querétaro, México

Andrea Cristina Garza Sandoval

Universidad Autónoma de Querétaro, México

Martha Germana Gutiérrez Pacheco

Universidad Autónoma de Querétaro, México

Jean Marino Barrón Medrano

Universidad Autónoma de Querétaro, México

Myldret Ángeles Medina

Universidad Autónoma de Querétaro, México

Daniela Nañez Rodríguez

Universidad Autónoma de Querétaro, México

Victoria Mariana Ibarra Ríos

Universidad Autónoma de Querétaro, México

CORRECCIÓN DE ESTILO

Natalia Margarita Rendón Caballero

Universidad Autónoma de Querétaro, México

AUXILIAR EN PROCESO EDITORIAL



CONTENIDO

8 EL IMPACTO POSITIVO DE LOS SISTEMAS INTEGRADOS AGRO-ACUÍCOLAS EN EL OBJETIVO PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE 6: AGUA LIMPIA Y SANEAMIENTO

Priscila Sarai Flores Aguilar
Genaro Martín Soto Zarazúa

26 EL ADN EXTRACELULAR: UN ELICITOR NOVEDOSO EN LA AGRICULTURA

Noelia Isabel Ferrusquía Jiménez
Enrique Rico García
Ramón Gerardo Guevara González

40 AGUAMIEL Y PULQUE: MÁS QUE BEBIDAS TRADICIONALES

Juan Manuel Vera Morales
Marcela Vargas Hernández
Andrés Dector Espinoza
Diana María Amaya Cruz

52 EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LOS INSECTOS POLINIZADORES DEL CORREDOR INDUSTRIAL GUANAJUATO

Ana Rosa Rocha Vallejo
José de Jesús Esparza Claudio
Johnattan Hernández Cumplido
Domancar Orona Tamayo
Elizabeth Quintana Rodríguez

72 EVALUACIÓN IN VITRO DEL POTENCIAL ANTIHIPERTENSIVO DE HIDROLIZADOS DE ALBÚMINA Y GLOBULINA DEL GRANO DE CACAO (*THEOBROMA CACAO* L. VAR. FORASTERO)

Eugenia Lugo Cervantes
Erik Gustavo Tovar Pérez

89 DETECCIÓN DE PATÓGENOS POTENCIALES EN LARVAS DE *SPODOPTERA FRUGIPERDA* MANTENIDAS BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

Francisco Javier Flores Gallardo
José Luis Hernández Flores
Miguel Ángel Ramos López
José Alberto Rodríguez Morales
Erika Álvarez Hidalgo
Jorge Núñez Ramírez
Juan Campos Guillén

EL IMPACTO POSITIVO DE LOS SISTEMAS INTEGRADOS AGRO-ACUÍCOLAS EN EL OBJETIVO PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE 6: AGUA LIMPIA Y SANEAMIENTO

THE POSITIVE IMPACT OF INTEGRATED AGRI-AQUACULTURE SYSTEMS ON THE SUSTAINABLE DEVELOPMENT GOAL 6: CLEAN WATER AND SANITATION



Priscila Sarai Flores Aguilar^{1*}
Genaro Martín Soto Zarazúa¹

Universidad Autónoma de Querétaro, México.

*pflores21@alumnos.uaq.mx



Resumen

Los umbrales seguros para la vida en la tierra han sufrido efectos catastróficos, desencadenando consigo eventos intempestivos que irrumpen con la estabilidad humana y natural. Para agravar las cosas, el estado actual de los 9 límites planetarios más el fenómeno de sobrepoblación se traducen en una alerta global, misma que produce zozobra en cuanto al uso apropiado de los recursos alimenticios. Las Naciones Unidas emitieron un plan de acción para reducir y corregir esta problemática en la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible. Un ejemplo patente de la complicación es el manejo inadecuado del agua, la protagonista de la estabilidad y conservación de cualquier biosistema; el depósito global de agua dulce (que constituye el 0.01 % de toda el agua del mundo) se encuentra en un umbral preocupante. El estado actual ha provocado que el espacio operativo penda de una delgada fibra entre el límite seguro y la zona de incertidumbre [6]. El objetivo del plan (en su indicador 6.4) para el 2030 consiste en mejorar la calidad del agua, reducir la proporción de aguas residuales no tratadas y exhortar la práctica del reciclaje y reutilización segura. Por nuestra parte, pretendemos describir cómo los sistemas integrados agro-acuícolas pueden impactar parcial y positivamente en la encomienda [6]. Para ello, la acuaponía funge como piedra angular de nuestro estudio, ya que está conformada por sistemas integrados agro-acuícolas sostenibles de producción de alimentos basados en el *suprarreciclaje* del agua: la reutilización de nutrientes y reducción de aguas residuales con un sentido orgánico. Dentro del territorio nacional se incita el uso de esta tecnología en aras de perpetuar la supervivencia global.

Palabras clave: Agenda 2030 para el Desarrollo Sustentable, agua limpia y saneamiento, sistemas integrados agro acuícolas-IAAS, sistemas urbanos de producción de alimentos, suprarreciclaje del agua.



Abstract

The safe thresholds for life on Earth have suffered catastrophic effects, triggering untimely events that disrupt human and natural stability. To worsen matters, the current state of the 9 planetary boundaries plus the overpopulation translate into a global alert regarding the food resources. The United Nations issued an action plan in the 2030 Agenda for Sustainable Development. A clear example of the complication is the mismanagement of water; the global deposit of fresh water (constituting 0.01% of all the world's water) is at a concerning threshold. The current state has led the operational space to the limit of uncertainty [6]. The goal of the plan (in its indicator 6.4) for 2030 is to improve water quality, reduce untreated wastewater, and promote recycling and reuse. We aim to describe how integrated agro-aquaculture systems can further the mission [6]. Aquaponics serves as the cornerstone of our study, as it is comprised of sustainable integrated agro-aquaculture food production systems based on the super recycling of water: the reuse of nutrients and reduction of wastewater with an organic sense. Within the national territory, the use of this technology is encouraged to perpetuate global survival.

Keywords: 2030 Agenda for Sustainable Development, clean water and sanitation, integrated agro-aquaculture systems (IAAs), urban food production systems, water super recycling.

Introducción

Durante el Holoceno, la capacidad reguladora de la tierra se mantuvo estable y facilitó las condiciones óptimas para el desarrollo humano. Durante este periodo permaneció fija la temperatura, así como la disponibilidad del agua dulce y los flujos biogeoquímicos [1]. Asimismo, los actos de los hombres en el periodo del Antropoceno desestabilizaron 3 de los 9 límites planetarios¹; actividades como la industrialización, agricultura y extracción de combustibles fósiles, por mencionar algunas [2]. Para garantizar la permanencia de las futuras generaciones es menester corregir el empleo de los recursos naturales [3]. Por lo anterior dicho, se han establecido estrate-

¹ Cambio climático, integridad de la biósfera, cambio del uso del suelo, flujos bioquímicos, reducción del ozono estratosférico, uso del agua dulce, acidificación del océano, carga de aerosoles atmosféricos, incorporación de nuevas entidades.



Los sistemas integrados de agro-acuicultura combinan diversas prácticas acuícolas y tienen como propósito aumentar y optimizar la producción de alimento. La acuaponía funge como piedra angular en el presente estudio, debido a la reutilización de nutrientes y reducción de aguas residuales con un sentido orgánico.

gias para reducir el deterioro de la tierra y el uso de materias primas. A tal efecto, se propone el cambio del actual modelo económico lineal por modelos de economía circular, regenerativa y distributiva [4], [6]. Como resultado de ello, surgen los 17 Objetivos para el Desarrollo Sostenible (ODS) generados por la ONU [7]. La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible incluye, de manera integral, aspectos de los tres pilares de la sostenibilidad, conformados por el económico, social y ambiental. Sin embargo, algunas gobernanzas del mundo desestiman los 17 ODS.

En la Tierra fluyen 263 ríos internacionales, mismos que drenan el 45 % de la superficie terrestre [8]. Al día de hoy las zonas de agua dulce contienen alrededor del 0.01 % del agua potable y cubren cerca del 0.8 % de la superficie terráquea [9]. En dicho contexto, el ODS 6 concierne al agua limpia y saneamiento, rubro que sustenta a más del 40 % de la población mundial. Se ha calculado que para el año 2025 la mitad de la población vivirá en áreas con estrés hídrico [9], [10]. La tarea del hombre por mantener la integridad de este pequeño porcentaje, a la par de aprovechar este recurso en la producción de alimento suficiente y garantizar la soberanía alimentaria, ha sido una encomienda titánica [11]. De tal modo, es necesario llevar las prácticas de producción de alimento hacia tecnologías sostenibles que incluyan la utilización eficiente del agua [12].

Los sistemas integrados de agro-acuicultura (IAAS por sus siglas en inglés) combinan diversas prácticas acuícolas y tienen como propósito aumentar y optimizar la producción de víveres mediante operaciones como la siembra, alimentación controlada y protección frente a depredadores. En áreas rurales supone una importante actividad económica, dado que produce alimentos que refuerzan la seguridad de comestibles en las poblaciones [13]. Comencemos por evocar la primera forma de los IAAS; dada su antigüedad se teoriza que fue creada entre los años 1150 y 1350 d. C. y parte del sistema de chinampas, propias del valle de México [14]. Por otro lado, eran comunes las granjas multitróficas en China por el año 5 d. C. (Figura 1). No obstante, hasta 1970 se acuñó el término *acuaponía* [15] gracias a las contribuciones de Lewis y Neagel; derivado de ello, apareció la primera descripción formal de un sistema de recirculación para la producción combinada de peces y plantas. Consiste en aprovechar los nutrientes que los peces excretan al agua en conjunto con la desnitrificación microbiana para maximizar la purificación y recirculación del hábitat y obtener una produc-



ción controlada de peces [16]. La acuaponía ha destacado en la actualidad por su eficiencia y sustentabilidad, al ocupar gran parte de los IAAS (Figura 1). Por consiguiente, puede acelerar (de manera local) el establecimiento del ODS 6, ya que se basa en el suprarreciclaje del agua, la reutilización de nutrientes y reducción de aguas residuales con un sentido orgánico; cabe señalar que es adaptable y versátil a diferentes entornos físicos [18]. A pesar de las repercusiones en torno al aumento poblacional, la contaminación y el desgaste de recursos naturales no renovables, esta tecnología ha ido *in crescendo* para resolver las necesidades climáticas actuales [19], [20], [21], [22]-[24].

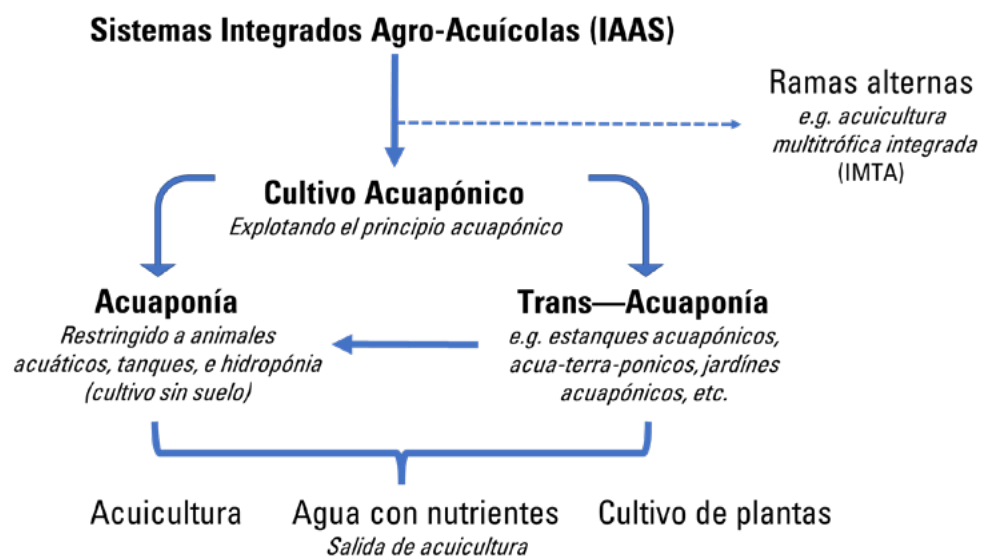


FIGURA 1. Definiciones y dependencias. Extraído y modificado de Baganz et al., (2021). [17]

Como se ha indicado, representa una doble oportunidad al compartir recursos (agua y nutrientes), producir alimento de manera sostenible y obtener dos tipos de proteína, de excelente calidad, con un alto contenido nutricional.

A pesar del reconocimiento de la acuaponía en México perdura su abandono entre agricultores y acuicultores. Es necesaria la apropiación y participación tanto a nivel local como la colaboración nacional y mundial; la ODS 17 estipula alianzas para lograr tal objetivo. El documento describe las contribuciones que las IAAS pueden agregar al entorno para el cumplimiento parcial de la ODS 6; además, alienta la cooperación regional, generación de registros estadísticos y la subsecuente aplicación de mejoras por parte de los programas estatales [25].



Breve historia de los Objetivos del Desarrollo Sostenible

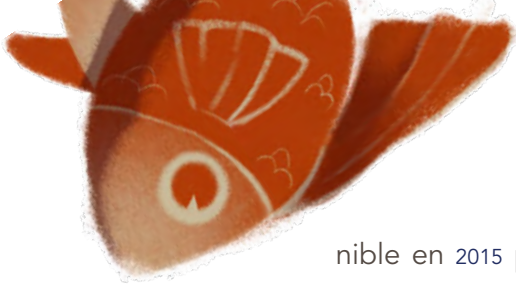
Inicios para formalizar las acciones a nivel mundial

La carrera por definir el modo de alcanzar el desarrollo sostenible comenzó en 1983, en la publicación *Comisión de Brundtland*, y cobró fuerza en 1987 con la impresión de *Nuestro Futuro Común* [26]. En este contexto se crearon movimientos y organizaciones como el *Acuerdo de Bretton Woods*, *Greenpeace*, *Chipko* y *Amigos de la Tierra*, sin embargo, estas cofradías carecieron del efecto social esperado en pos de cincelar un cambio en la mentalidad colectiva. Por otro lado, los gremios que destacan por sus acuerdos sólidos y metas concretadas son el *Protocolo de Kioto* (1997) [27], *8 Objetivos de Desarrollo del Milenio* (2000) [28] y *Objetivos de Desarrollo Sostenible-ODS* (2015) [29]; regido por el lema “No dejar a nadie atrás: la igualdad y la no discriminación en el corazón del desarrollo sostenible”, este último engloba las experiencias adquiridas de los anteriores; considera los fracasos y desafíos que obstaculizan el éxito de su establecimiento [30]. La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible generada por la ONU junto con sus 193 miembros, buscan establecer, unificar y generar progresos en las condiciones de vida de la población mundial. Asimismo, su objetivo es disminuir la mala praxis de las industrias y empresas, con el fin de migrar de la economía lineal hacia una economía circular y sostenible. Cada uno de los 17 ODS de la Agenda 2030 cuenta con 232 indicadores; se pretende efectuarlos comunitariamente a través del gobierno y la sociedad (Figura 2).

FIGURA 2. Los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible. Extraído de Naciones Unidas (2020).



México ha tomado algunas medidas para concertar un entorno apropiado a las vías sostenibles: implementó las estrategias para el desarrollo sosten-



nible en 2015 por mano del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI); durante el mismo año se estableció el Comité Técnico Especializado del Sistema de Información de los Objetivos de Desarrollo del Milenio para medir los indicadores de cumplimiento de los ODS. En 2017 emergió el Consejo Nacional para la Agenda 2030, y en mayo de 2018 tuvo lugar su primera sesión de diálogo abierto, donde se describió el Plan Nacional de Desarrollo 2019-2024 [31].

Por desgracia, las limitantes que pesan sobre México solo permiten cumplir con 169 indicadores de 232, los 63 restantes precisan cálculos estadísticos adicionales, de los cuales no se puede rendir cuentas. De los indicadores aplicados a nivel nacional (169), 83 se comprueban periódicamente, 36 no se miden periódicamente y 50 carecen de una metodología para su cálculo [31]. En la página oficial de la Agenda 2030 se exponen los indicadores nacionales marcados con una N, la cual denota un fin determinado [32]. De los 17 objetivos, el ODS 6 presenta ocho metas globales junto con 11 de sus indicadores, por lo que fue necesario sustituir tres metas globales y tres indicadores por dos metas nacionales y tres indicadores (Tabla 1).

Meta 6: agua limpia y saneamiento, y los sistemas integrados agroacuícolas como parte de la solución

El ODS 6 busca garantizar la disponibilidad, saneamiento y gestión sostenible del agua. Tal efecto abarca ocho objetivos (Tabla 1), de los cuales, a nivel mundial, se han concretado 641 acciones en 48 eventos diferentes, y en el año 2020 fueron generadas 30 publicaciones al respecto [33]. Asimismo, en 2021 se cumplieron 42 acciones hasta abril, obteniendo un total de 683 acciones. Durante la misma temporada se ejecutaron acciones relacionadas a once indicadores, tres de ellos nacionales. Por ejemplo, el 14 de abril de 2021 fue la última actualización del indicador nacional 6N.1.1, el cual refiere al porcentaje de la población con acceso diario de agua entubada y saneamiento. Actualmente, se contabilizaron 35 publicaciones, 259 eventos y 1685 acciones, mismos que demuestran el compromiso global activo [34]. Esta acción estadística se implementó en 2018 a nivel república y a la fecha se reconoce que el estado con más del 90 % de acceso al agua entubada es Nuevo León, mientras en Guerrero solo el 10 % gozan de este derecho. Otro indicador nacional es el 6N.2.2, encargado de evaluar la producción de cuatro cultivos básicos, maíz, frijol, trigo y arroz, a través de las zonas con infraestructura





de riego y su unidad de superficie. Esta acción comenzó en el 2019, y para tal efecto se contabilizaron los datos disponibles desde 2012. En la última actualización del 12 mayo de 2021 se advierte un aumento de 1.1 ton ha^{-1} en el rendimiento de estos cultivos, debido al aprovechamiento de la infraestructura de riego. Los metadatos relacionados a cada señalador se pueden consultar y descargar en la página oficial de agenda2030.mx en el apartado "indicadores" [32]. El órgano interno que coordina estas acciones es la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) en conjunto con la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), la Gerencia de Planificación Hídrica y el Sistema Nacional de Información del Agua (SINA) [33].

De esta circunstancia nace el hecho de que tanto la acuaponía como las IAAS presentan un ahorro sustancial respecto al uso del agua dulce para la producción de alimentos. En contraste, la agricultura representa el 70 % del gasto anual [35], mientras que la acuaponía reutiliza el agua residual de la acuicultura, ahorrando cerca del 90 % [17]. Al respecto, conviene mencionar que el elevado ahorro de agua puede destinarse al consumo humano en lugar de la producción de alimentos. La acuicultura es un candidato ideal, dado el porcentaje inferior que refleja en la huella hídrica de un 97 % entre cultivar pescado en sistemas acuícolas de recirculación (RAS, por sus siglas en inglés) y ganado en forma tradicional; en comparación, otras fuentes de proteína como la carne de puerco, gallina o grillo abarcan menos del 91.7 %, 89.7 % y 90.3 % [14]. Es preciso hacer recambios desde un 10 % hasta un 30 % en los RAS, aunque la producción por acuaponía elimina gran parte los recambios y los agrega al agua dulce evapotranspirada por medio del estanque y las plantas; estos efluentes proveen más del 50 % de los nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas [36].

El desempeño de la acuicultura queda rezagado hasta un 2.5 % del crecimiento anual proyectado para 2022, en contraste con el 6.1 % atribuido al periodo 2003-2012; entre otros agravantes se encuentra la escasez de agua dulce y la disminución de lugares favorables de producción [37]. Una de las principales problemáticas que comparten los sistemas de producción de alimentos es el extenso espacio que requieren, pero los constructos acuapónicos pueden montarse sin suelo, en un medio inerte. Como era de esperar, han relucido numerosos reportes entorno al beneficio ambiental que aporta el uso de nuevos materiales de desecho reincorporados como sustrato inerte, lo que aumenta las virtudes de esta tecnología [38], [39].



TABLA 1. Descripción del total de metas e indicadores del Objetivo 6: *Agua Limpia y Saneamiento* de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible. Las letras G, N y E indican meta global, nacional y estatal, respectivamente. En cursivas se muestran las metas e indicadores desestimados a nivel nacional [32].

AGUA LIMPIA Y SANEAMIENTO (ODS 6)		
META	INDICADOR	DESCRIPCIÓN
6.1G		Lograr el acceso universal y equitativo al agua potable segura y asequible para el año 2030.
	6.1.1	Proporción de la población que utiliza servicios de agua potable gestionados de forma segura.
6.2G		Conseguir el acceso al saneamiento e higiene adecuados y equitativos para la población y erradicar la defecación a la intemperie; se priorizarán las necesidades de mujeres, niñas y personas vulnerables.
	6.2.1	Proporción de la población que goza tanto de servicios de saneamiento gestionados de forma segura como de una instalación para lavado de manos.
6.3G		Mejorar la calidad del agua al reducir la contaminación por descargas de productos químicos y materiales peligrosos; tratar la mayor parte de aguas residuales y aumentar sustancialmente el reciclaje y reutilización consciente a nivel mundial.
	6.3.1	Proporción de aguas residuales tratadas de forma segura.
	6.3.2	Proporción de masas de agua con óptima calidad de agua ambiente.
6.4G		Rectificar la escasez hídrica a través de extracciones y suministros sostenibles de agua dulce para todos los sectores hacia 2030 .
	6.4.1	Emplear con eficacia el agua.
	6.4.2	Nivel de estrés hídrico: extracción de agua dulce con proporción de la disponibilidad.
6.5G		Aplicar la gestión integrada de los recursos hídricos a todos los estratos incluyendo la cooperación transfronteriza.
	6.5.1	Grado de implementación de la gestión integrada de los recursos hídricos (0-100).
	6.5.2	Proporción de la cuenca transfronteriza con un acuerdo operacional para la cooperación en materia de agua.
6n.1N E		Brindar acceso universal y equitativo al agua potable y saneamiento, se atenderá principalmente a grupos transgeneracionales y en desventaja.
	6n.1.1	Porcentaje de la población que dispone de agua entubada, así como saneamiento.
6n.2N		Garantizar una gestión integral de recursos hídricos a todos los niveles.
	6n.2.1	Grado de presión sobre el recurso hídrico de las zonas norte y centro del país.
	6n.2.2	Rendimiento de cultivos básicos en zonas con infraestructura de riego.
6.6 <i>No aplica en México</i>		<i>Proteger y restaurar para 2020 los ecosistemas relacionados con el agua, incluidos montañas, bosques, humedales, ríos, acuíferos y lagos.</i>
	6.6.1	<i>Cambio en la extensión de los ecosistemas relacionados con el agua.</i>
6.a <i>No aplica en México</i>		<i>Ampliar la cooperación internacional, junto con el apoyo para los países en desarrollo en cuanto a la creación de actividades y programas relacionados con el tema hídrico, incluidas tecnologías de captación de agua, desalinización, eficiencia hídrica, tratamiento de aguas residuales, reciclado y reutilización hacia 2030.</i>



AGUA LIMPIA Y SANEAMIENTO (ODS 6)		
META	INDICADOR	DESCRIPCIÓN
	6.a.1	Asistencia oficial para el desarrollo relacionado al agua y saneamiento que conforma un plan de gastos coordinado por el gobierno.
6.b No aplica en México		Apoyar y fortalecer la participación de las comunidades locales en la mejora de la gestión y saneamiento del agua.
	6.b.1	Proporción de unidades administrativas locales con políticas, procedimientos establecidos y operativos para la participación ciudadana y local en la gestión del saneamiento del agua.

México alberga 11 592 km de costa e incluye una red de ríos y arroyos de 633 km de longitud, junto con sistemas de lagos y lagunas que enriquecen el suministro hídrico para la actividad acuícola [40], [41]. En este escenario, México es el segundo productor acuícola con el 82 % de pesca y 18 % de acuicultura. De esta última actividad el primer organismo cosechado es el camarón con más de 180 000 t, el segundo lugar es ocupado por la mojarra con 44 000 t. De las especies antes mencionadas se obtienen estudios sobre su integración en IAAS con la finalidad de aumentar sus eficiencias [42-46]. Para ilustrarlo mejor, tomamos el número de toneladas producidas (reportadas) de mojarra y consideramos un recambio de aguas residuales del 20 %, mismos que logran cuantificar un efluente de más de 3 millones de m³. Este volumen equivale alrededor de 1000 piscinas olímpicas repletas de partículas orgánicas disueltas como producto del metabolismo de los peces y el alimento desaprovechado. Si estas aguas se integraran a un IAAS se obtendrían al menos 98 t de hortalizas y vegetales, los cuáles se venderían por 3.6 veces el valor del pescado [47], [48]; además, se obtiene un ahorro de más 2 t de macronutrientes y más de 500 kg de micronutrientes [16]. Estos cálculos son aproximados por semana, ya que los recambios en los sistemas acuícolas se pueden realizar diariamente o cada tercer día, según sea la necesidad [49]. En este sentido, la tecnología acuapónica puede tanto disminuir el gasto de agua dulce destinado a la producción como evitar la contaminación y eutroficación ocasionadas por las descargas de aguas residuales hacia los cuerpos acuáticos. Concebimos pues, que la acuaponía tiene un impacto positivo a nivel local y directo al ODS 6; particularmente en el punto 6.3.1, por otro lado, en los 6.3.2 y 6.4 el impacto es indirecto mas también positivo (Tabla 1).





TABLA 2. Producción acuícola por entidad federativa en México.

Entre los 32 estados que conforman la República, los que poseen un número considerable de unidades de producción acuícola (UPA) son:

ENTIDAD	UPA	ENTIDAD	UPA	ENTIDAD	UPA
PUEBLA	1093	QUERÉTARO	110	MORELOS	270
SINALOA	1294	TLAXCALA	121	VERACRUZ	574
SONORA	325	GUERRERO	538	NAYARIT	400
BAJA CALIFORNIA NORTE	222	HIDALGO	418	OAXACA	592
BAJA CALIFORNIA SUR	176	JALISCO	213	CHIAPAS	526
CAMPECHE	163	ESTADO DE MÉXICO	512	TABASCO	694
COLIMA	148	MICHOACÁN	450	YUCATÁN	67

Cabe mencionar que, a pesar de la ínfima cantidad de unidades en Yucatán, este estado representa el octavo lugar nacional como productor pesquero [50]. Los territorios antes mencionados podrían comenzar una transformación paulatina hacia el rendimiento por medio de IAAS (Figura 3) e instituir anuarios estadísticos de elaboración acuapónica, ya que la información de tal tópico es limitada de manera nacional. Varias investigaciones se han dedi-



FIGURA 3. Diagrama de un sistema acuapónico acoplado tradicional; la fuente principal de nutrición es la comida proveída a los peces, la cual se metaboliza y después se transforma en fuente de nutrición para el cultivo vegetal.

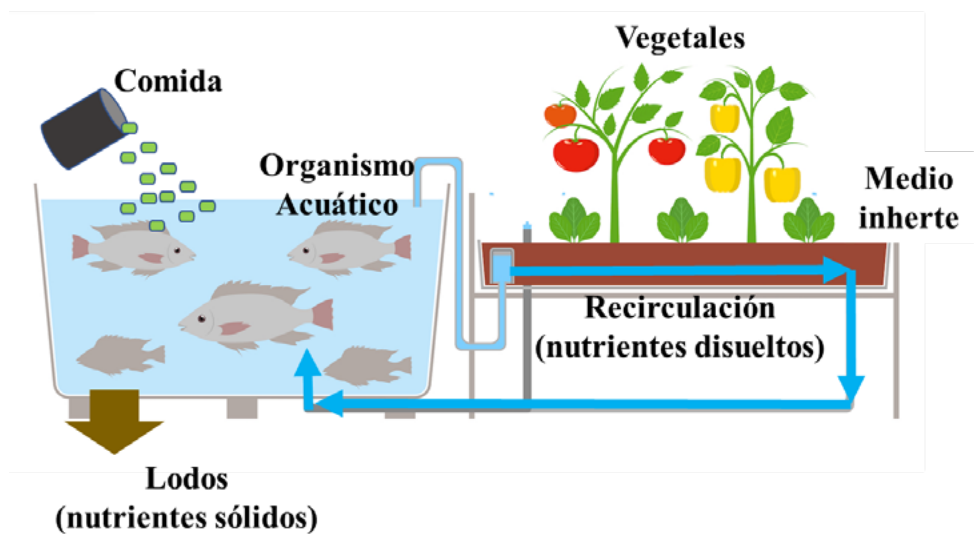
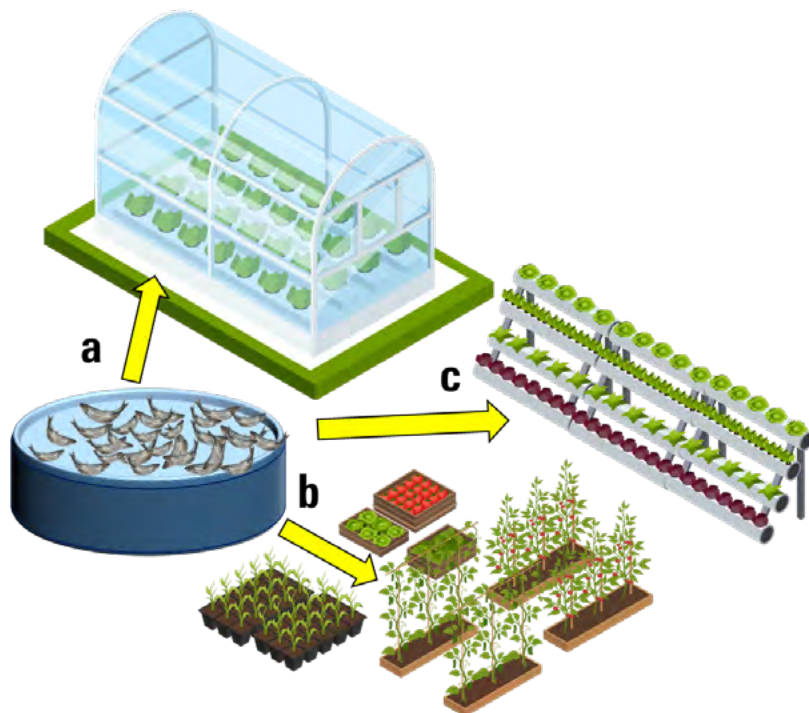


FIGURA 3. (continuación) Posibles usos para el agua residual proveniente de las Unidades de Producción Acuícola hacia sistemas protegidos (a), camas de cultivo con o sin suelo (b) y sistemas hidropónicos en cualquiera de sus modalidades (c).





Conclusiones

La acuaponía como principal modelo de sistema integrado agro-acuícola es una herramienta sostenible de producción de alimentos. Se caracteriza por ahorrar hasta un 90 % de agua y brindar más de la mitad de los nutrientes básicos para el crecimiento vegetal. De esta manera la producción alimentaria se diversifica y le brinda un valor agregado tanto al producto residual en la acuicultura como a los efluentes. Estos últimos, a pesar de su naturaleza remanente, son ricos en nutrientes utilizables para la producción de hortalizas, vegetales e ingresos. Así pues, es posible reducir la contaminación al eliminar en un porcentaje considerable los efluentes que ocasionan eutroficación. Según dicta el indicador 6.3, la meta es disminuir a la mitad el porcentaje de aguas residuales sin tratar. En este sentido, las estadísticas nacionales sobre los lugares de pesca y acuicultura son favorables para el aumento del reciclado y reutilización del agua. En conclusión, aunque existe la posibilidad de lograr la meta sin los IAAS, su implementación a nivel nacional beneficiaría el cumplimiento del Objetivo 6, en particular el indicador 6.3.

Agradecimientos

Extendemos nuestra gratitud al Conacyt, que financió parcialmente este trabajo a través de la beca 2019-000037-02NACF-01190 para estudios doctorales.

Referencias

- [1] W. Steffen, "Trajectories of the Earth System in the Anthropocene," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 115, no. 33, pp. 8252–8259, 2018.
- [2] J. Rockström, "Planetary boundaries," en *Harvesting the Biosphere*, V. Smil, Estados Unidos,: MIT Press, 2010.
- [3] J. Gott, R. Morgenstern, y M. Turnšek, "Aquaponics for the Anthropocene: Towards a 'Sustainability First' Agenda," *Aquaponics Food Production Systems*, pp. 393-432, 2019, DOI: 10.1007/978-3-030-15943-6_16
- [4] M. Geissdoerfer, P. Savaget, N. M. P. Bocken, y E. J. Hultink, "The Circular Economy - A new sustainability paradigm?," *Journal of Cleaner Production*, vol. 143. Elsevier Ltd, pp. 757-768, Febrero 2017. DOI: 10.1016/j.jclepro.2016.12.048
- [5] K. Raworth, "A Safe and Just Space for Humanity: Can we



- live within the doughnut?".
Oxfam.org. www.oxfam.org/grow
- [6] M. Leach, K. Raworth, y J. Rockström, "Between social and planetary boundaries: Navigating pathways in the safe and just space for humanity," 2013.
- [7] Organización de las Naciones Unidas, "Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development". <https://sdgs.un.org/2030agenda>
- [8] L. Wang Erlandsson, "A planetary boundary for green water," *Nat Rev Earth Environ*, pp. 1-13, 2022.
- [9] D. Dudgeon, "Freshwater biodiversity: Importance, threats, status and conservation challenges," *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, vol. 81, no. 2, pp. 163-182, Mayo 2006. DOI: 10.1017/S1464793105006950
- [10] FAO, IFAD, UNICEF, WFP, y WHO, "The State of Food Security and Nutrition in the World 2020," FAO, 2020. DOI: 10.4060/ca9692en
- [11] FAO, IFAD, UNICEF, WFP, y WHO, "The State of Food Security and Nutrition in the World 2021," FAO, Julio 2021. DOI: 10.4060/CB4474EN
- [12] T. Gleeson, "The water planetary boundary: interrogation and revision," *One Earth*, vol. 2, no. 3, pp. 223-234, 2020
- [13] A. D. Zajdband, "Integrated Agri-Aquaculture Systems," pp. 87-127, 2011. DOI: 10.1007/978-94-007-1521-9_4
- [14] A. Joyce, S. Goddek, B. Kotzen, y S. Wuertz, "Aquaponics: Closing the Cycle on Limited Water, Land and Nutrient Resources," *Aquaponics Food Production Systems*, pp. 19-34, 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-15943-6_2
- [15] H. Palm, "Towards commercial aquaponics: a review of systems, designs, scales and nomenclature," *Aquaculture International*, vol. 26, no. 3, pp. 813-842, Junio 2018. DOI: 10.1007/s10499-018-0249-z
- [16] W. Kloas, "A new concept for aquaponic systems to improve sustainability, increase productivity, and reduce environmental impacts," *Aquac Environ Interact*, vol. 7, no. 2, pp. 179-192, 2015. DOI: 10.3354/aei00146
- [17] V. T. Okomoda, S. A. Oladimeji, S. G. Solomon, S. O. Olufeagba, S. I. Ogah, y M. Ikhwanuddin, "Aquaponics production system: A review of historical perspective, opportunities, and challenges of its adoption," *Food Sci Nutrition*, vol. 11, no. 3, pp. 1157-1165, Marzo 2023. DOI: 10.1002/FSN3.3154
- [18] P. S. Flores Aguilar, J. F. García Trejo, y S. I. Martínez Guido, "Aquaponic: A Versatile and Integrated alternative in Food



- Production for the Mexican environment," *Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ)*, vol. 13, pp. 43-53, 2020.
- [19] C. Jaeger, P. Foucard, A. Tocqueville, S. Nahon, y J. Aubin, "Mass balanced based LCA of a common carp-lettuce aquaponics system," *Aquac Eng*, vol. 84, pp. 29-41, Febrero 2019. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2018.11.003
- [20] S. Wongkiew, Z. Hu, K. Chandran, J. W. Lee, y S. K. Khanal, "Nitrogen transformations in aquaponic systems: A review," *Aquacultural Engineering*, vol. 76, pp. 9-19, Enero 2017. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2017.01.004
- [21] B. S. Cerozi, y K. Fitzsimmons, "Phosphorus dynamics modeling and mass balance in an aquaponics system," *Agric Syst*, vol. 153, pp. 94-100, Mayo 2017. DOI: 10.1016/j.agtsy.2017.01.020
- [22] H. Monsees, W. Kloas, y S. Wuertz, "Decoupled systems on trial: Eliminating bottlenecks to improve aquaponic processes," *PLoS One*, vol. 12, no. 9, Septiembre 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0183056
- [23] W. Kloas, S. Wuertz, y H. Monsees, "Comparisson of coupled and decoupled aquaponics-Implications for future system design", en *Aquaculture Europe (EAS)*, Edimburgo, Escocia, 2016. <https://www.researchgate.net/publication/314305063>
- [24] H. Monsees, J. Suhl, M. Paul, W. Kloas, D. Dannehl, y S. Würtz, "Lettuce (*Lactuca sativa*, variety *Salanova*) production in decoupled aquaponic systems: Same yield and similar quality as in conventional hydroponic systems but drastically reduced greenhouse gas emissions by saving inorganic fertilizer," *PLoS One*, vol. 14, no. 6, Junio 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0218368
- [25] FAORLC, "Panorama de la Pesca Marina y Continental en América Latina y el Caribe," La Habana, Cuba, 2019. <https://www.fao.org/3/cc3839es/cc3839es.pdf>
- [26] T. Redek, P. Domadenik, y M. Koman, "Sustainable Development Goals in the EU and the Challenges in Their Implementation," *Challenges on the Path Toward Sustainability in Europe*, pp. 11-29, Diciembre 2020. DOI: 10.1108/978-1-80043-972-620201003
- [27] N. Maamoun, "The Kyoto protocol: Empirical evidence of a hidden success," *J Environ Econ Manage*, vol. 95, pp. 227-256, Mayo 2019. DOI: 10.1016/J.JEEM.2019.04.001
- [28] S. Kumar, N. Kumar, y S. Vivekadhish, "Millennium Development Goals (MDGs) to Sustaina-



- ble Development Goals (SDGs): Addressing Unfinished Agenda and Strengthening Sustainable Development and Partnership," *Indian J Community Med*, vol. 41, no. 1, pp. 1-4, Enero 2016. DOI: 10.4103/0970-0218.170955
- [29] J. Randers y et al., "Achieving the 17 Sustainable Development Goals within 9 planetary boundaries," *Global Sustainability*, vol. 2, 2019. DOI: 10.1017/SUS.2019.22
- [30] United Nations, "Equality and Non-Discrimination at the Heart of Sustainable Development Leaving No One Behind: A Shared United Nations System Framework for Action United Nations System Chief Executives Board for Coordination," Nueva York, 2017.
- [31] Gobierno de México, "Voluntary National Review For the High-Level Political Forum on Sustainable Development. (Basis for a long-Term Sustainable Development vision in Mexico). Progress on the implementation of the 2030 Agenda 2018". <https://www.gob.mx/agenda2030/documentos/61637>
- [32] INEGI., "México SIODS (Sistema de Información de los Objetivos de Desarrollo Sostenible)". <https://agenda2030.mx/index.html?lang=en#/home>
- [33] Organización de las Naciones Unidas, "Sustainable Development Goals (SDGs)". <https://sdgs.un.org/>
- [34] Organización de las Naciones Unidas, "The 17 Goals Sustainable Development". <https://sdgs.un.org/es/goals>
- [35] FAO, *Water for Sustainable Food and Agriculture A report produced for the G20 Presidency of Germany*, ONU: Food & Agriculture Org., 2018.
- [36] W. Lennard and S. Goddek, "Aquaponics: The Basics," *Aquaponics Food Production Systems*, pp. 113-143, 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-15943-6_5
- [37] FAO, "The State of World Fisheries and Aquaculture 2022," FAO, Junio 2022. DOI: 10.4060/CC0461EN
- [38] R. P. Bartelme, B. O. Oyserman, J. E. Blom, O. J. Sepulveda Villet, y R. J. Newton, "Stripping away the soil: Plant growth promoting microbiology opportunities in aquaponics," *Front Microbiol*, vol. 9, pp. 8, Enero 2018. DOI: 10.3389/FMICB.2018.00008/BIBTEX
- [39] A. S. Oladimeji, S. O. Olufeagba, V. O. Ayuba, S. G. Sololmon, y V. T. Okomoda, "Effects of different growth media on water quality and plant yield in a catfish-pumpkin aquaponics system," *J King Saud Univ Sci*, vol. 32, no. 1, pp. 60-66, Enero 2020. DOI: 10.1016/j.jksus.2018.02.001



- [40] CONAPESCA, "Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2018". https://nube.conapesc.gob.mx/sites/cona/dgp-pe/2018/ANUARIO_2018.pdf
- [41] A.V. Zamora, "Análisis y perspectivas de la Acuaponía en México," Tesis individual, Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo, Texcoco, Edo. de México, 2018.
- [42] A. D. Armenta Bojórquez, A. R. Valenzuela Castañeda, K. Fitzsimmons, E. S. López Álvarez, G. Rodríguez Quiroz, y W. Valenzuela Quiñónez, "Pacific white shrimp and tomato production using water effluents and salinity-tolerant grafted plants in an integrated aquaponic production system," *J Clean Prod*, vol. 278, pp. 124064, Enero 2021. DOI: 10.1016/J.JCLEPRO.2020.124064
- [43] G. A. Peña Herrejón, J. Sánchez Velázquez, J. F. García Trejo, G. M. Soto Zarazúa, y E. Rico García, "Effect of stocking density on growth and survival of the prawn *macrobrachium tenellum*, cultured in a recirculating aquaculture system," *Lat Am J Aquat Res*, vol. 47, no. 2, pp. 342-348, Mayo 2019. DOI: 10.3856/VOL47-ISSUE2-FULLTEXT-14
- [44] J. Rakocy, M. Masser y T. Lo-sordo, "Recirculating aquaculture tank production systems: Aquaponics-Integrating fish and plant culture". SRAC Publication, vol. 454, 2006.
- [45] U. Knaus y H. Palm, "Effects of the fish species choice on vegetables in aquaponics under spring-summer conditions in northern Germany (Mecklenburg Western Pomerania)," *Aquaculture*, vol. 473, pp. 62-73, Abril 2017. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.01.020
- [46] D. Karimanzira, K. J. Keesman, W. Kloas, D. Baganz, y T. Rauschenbach, "Dynamic modeling of the INAPRO aquaponic system," *Aquac Eng*, vol. 75, pp. 29-45, Noviembre 2016. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2016.10.004
- [47] J. Rakocy, "The University of the Virgin Islands Aquaponics System - AquacultureHub," 2010.
- [48] J. Rakocy, D. Bailey, R. Shultz, y J. Danaher, "Preliminary Evaluation of Organic Waste from Two Aquaculture Systems as a Source of Inorganic Nutrients for Hydroponics," 2007.
- [49] FAO, "Small-scale aquaponic food production Integrated fish and plant farming," 2014.



- [50] CONAPESCA, "Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca de la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca". <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuicultura-y-pesca>
- [51] E. Fernández Juárez, M. del P. Navarro Rodríguez, I. Landero Torres, F. C. Gómez Merino, y J. A. Pérez Sato, "La acuaponía rústica: una alternativa para contribuir a la soberanía alimentaria en comunidades rurales," *Agro Productividad*, vol. 12, no. 12, Diciembre 2019. DOI: 10.32854/agrop.vi0.1557
- [52] F. Iriarte Rodríguez, M. Mendoza Carranza, R. Gómez Álvarez, J. C. Cornelis Van Der Wal, M. A. Perera García, "Viabilidad técnica-financiera de un Sistema Acuapónico de Baja Intensidad (SABI) para la seguridad alimentaria familiar", 2017.
- [53] G. Baganz, et. al., "The aquaponic principle- It is all about coupling," *Reviews in Aquaculture*. John Wiley and Sons Inc, Enero 2021. DOI: 10.1111/raq.12596
- [54] United Nations, "Sustainable Development Goals; Guidelines for the use of the SDG logo including the colour wheel, and 17 icons," Nueva York, Mayo 2020.

EL ADN EXTRACELULAR: UN ELICITOR NOVEDOSO EN LA AGRICULTURA

EXTRACELLULAR DNA: A NOVEL
ELICITOR IN AGRICULTURE

Noelia Isabel Ferrusquía Jiménez¹⁺
Enrique Rico García¹
Ramón Gerardo Guevara González^{1*}

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, México

+nolsnola.nf@gmail.com

*ramon.guevara@uaq.mx



Abstract

Plants are sessile organisms (fixed in their place of growth and unable to move) and due to their nature, they resort to the recognition of molecules called elicitors, defense mechanisms against threatening situations. These structural compounds are part of various groups of biogenic molecules including proteins, polysaccharides and lipopolysaccharides, among others; it is not fortuitous that they are capable of modifying physiological, metabolic and genetic responses in pursuit of an appropriate response to untimely events that cause cellular imbalance such as physical damage and infections. From this perspective, extracellular DNA (eDNA) has gained relevance in recent years as it has been recognized as a plant elicitor that provokes the activation of the immune system, depending on the dose and source. For these rea-

Resumen

Las plantas son organismos sésiles (fijos en su lugar de crecimiento e incapaces de trasladarse) y debido a su naturaleza recurren al reconocimiento de moléculas denominadas elicitores, mecanismos de defensa ante situaciones de amenaza. Estos compuestos estructurales forman parte de diversos grupos de moléculas biogénicas que incluyen proteínas, polisacáridos y lipopolisacáridos, entre otros; no es fortuito su capacidad de modificar respuestas fisiológicas, metabólicas y genéticas en pos de una respuesta apropiada frente a los eventos intempestivos que provocan desequilibrio celular como daños físicos e infecciones. Desde esta perspectiva, el ADN extracelular (eADN) ha cobrado relevancia en los últimos años al ser reconocido como un elicitador vegetal que provoca la activación del sistema inmune, dependiendo de la dosis y fuente de obtención. Por estas razones, la presente investigación incluye un panorama general de los diferentes tipos de elicitores empleados en la industria agrícola, haciendo énfasis en disertaciones que introducen al eADN como elicitador de plantas. Además, se añadió un criterio del aprovechamiento de esta muestra como posible elicitador de microorganismos benéficos, de modo que se augura generar nuevas áreas de investigación que contribuirán al desarrollo de la técnica.

Palabras clave: biopesticidas, eADN, elicitores, microorganismo benéfico, vacunas vegetales.



sons, the present research includes an overview of the different types of elicitors used in the agricultural industry, with emphasis on dissertations that include eDNA as a plant elicitor. In addition, a criterion of the use of this sample as a possible elicitor of beneficial microorganisms was added, so that it is expected to generate new areas of research that will contribute to the development of the technique.

Keywords: biopesticides, eDNA, elicitors, beneficial microorganism, plant vaccines.

Introducción

Las plantas, a lo largo del tiempo y con el crujir de la historia evolutiva, han apelado al reconocimiento de patrones moleculares provenientes de microorganismos, debido a su condición sésil para defenderse del ataque de patógenos u otras situaciones de estrés [1]. Dichos patrones, también conocidos como elicitores o estresores biológicos, son de naturaleza biogénica (proteínas, carbohidratos, lípidos, entre otros) y capaces de desencadenar una respuesta fisiológica o morfológica que agilice su inmunidad vegetal [2]. A su vez, existen varios tipos de estresores categorizados en dos campos: el físico (temperatura, electromagnetismo) y el químico (nanopartículas, pesticidas, sales y elementos esenciales). En las plantas pueden provocar respuestas favorables al aplicarse oportunamente, en dosis adecuadas y durante la etapa fenológica; las cuales omitiremos en la presente revisión, aunque puede consultarse en [3] y [4] información al respecto, sin embargo en este artículo el término elicitor refiere a moléculas biológicas.

La elicitación de plantas es una estrategia abrazada por la industria agrícola y farmacéutica, ya que ha impulsado avances vertiginosos en los últimos años [5], [6]. Por un lado, el uso de elicitores, en el área agrícola, se ha desempeñado en la creación de novedosas tácticas para generar respuestas de tolerancia a diversos factores de estrés, como sequía, salinidad y protección frente a patógenos, por mencionar unos cuantos [2], [6], [7]. Por otro lado, en el área farmacéutica se han estudiado para favorecer la acumulación de compuestos bioactivos útiles en la medicina o la industria de los aromas [1]. Además, el proceso de elicitación no se limita a especies vegetales sino que se ha propuesto para la acumulación de compuestos de interés en microorganismos. Dadas



estas ventajas, la elicitación se sitúa como un proceso general que permite a los organismos lidiar efectivamente ante las situaciones de estrés [8].

El ADN extracelular (eADN) es ácido desoxirribonucleico que, a través de procesos de lisis o daño celular, se libera al medio extracelular [9], [10]. Este tipo de estructura es reconocido como elicitador, ya que en las plantas desencadena respuestas ligadas a la activación de defensa [11], [12]. Se ha estudiado su aplicación en hongos y oomicetos, asimismo se localizó la activación de enzimas antioxidantes y MAPKs (proteínas cinasas activadas por mitógeno) relacionadas al estrés celular [13]. El eADN se ha vuelto un tema de interés debido a que sus resultados dependen de la fuente de obtención y la concentración al momento de aplicarlo, por ejemplo, se han observado respuestas negativas, como supresión de crecimiento y desarrollo celular al administrarlo en altas aglomeraciones [14]; en contraste, dosis bajas expresan la activación de defensa celular, ligadas a la supervivencia [11]. Ambas vías fueron propuestas como estrategias para la creación de herbicidas y vacunas para plantas, respectivamente, ya que cuentan con un amplio potencial en diversas áreas [10], [15], [16].


Se reconoce que ciertos elicitores vegetales han ganado reconocimiento en la industria agrícola debido a su aplicación para prevenir enfermedades vegetales; sin embargo, perdura un latente oscurantismo de los diferentes elicitores, así como de su empleo y aplicación agrícola. Por tanto, el objetivo de este trabajo es brindar una visión de los diferentes elicitores encontrados en la industria agrícola, del mismo modo que el innovador uso del ADN extracelular como elicitador vegetal. Igualmente, se incluye una perspectiva sobre su manejo como elicitador de microorganismos benéficos aplicados en la agricultura.

Elicitores agrícolas

Como se ha mencionado, la elicitación posee múltiples aplicaciones en el área agrícola. Algunos autores utilizan el término de "agente activador de inmunidad" para referenciar el concepto de elicitador [17]. Esta sustancia, en el sentido más amplio, es aquella molécula percibida por una célula vegetal como un factor de estrés biogénico [2]. Principalmente en plantas es un eustresor, debido a que genera un efecto positivo como el estrés adaptativo (eustrés), permitiendo a la planta sobrellevar ataques tanto bióticos como abióticos [18]. Es apremiante que el elicitador sea detectado por un receptor celular de patrones de reconocimiento conocido como PRR, por las siglas en inglés de pattern recognition receptor.



El ADN extracelular (eADN) ha cobrado relevancia en los últimos años al ser reconocido como un elicitador vegetal que provoca la activación del sistema inmune. La presente investigación incluye un panorama general de los diferentes tipos de elicitores empleados en la industria agrícola como posibles microorganismos benéficos.




El PRR activa la expresión de genes relacionados con la defensa celular a través de complejas rutas de señalización intracelulares [9]. Además, puede clasificarse en exógeno o endógeno; el primero designa las moléculas externas a la planta, provenientes de otros organismos como hongos y bacterias, se segmenta en:

- Patrones moleculares asociados a microorganismos/patógenos (MAMPs/PAMPs), como la flagelina y la quitina.
- Patrones moleculares ligados a herbívoros (HAMPs), como las feromonas sexuales insectiles.
- Patrones moleculares relacionados a nematodos (NAMPS), como el ascarósido #18 [9], [19].

Los elicitores endógenos son aquellos producidos de manera interna en la célula vegetal; aquí encontramos los patrones moleculares asociados al daño (DAMPs), como el ADN extracelular, ATP (trifosfato de adenosina), fragmentos de pared celular, péptidos, entre otros [7], [12]. Estos ejemplos constituyen a moléculas que desempeñan una función estándar al interior de la célula vegetal, sin embargo en momentos de alto estrés, derivado del daño o procesos infecciosos, se degradan y salen al medio extracelular donde pueden actuar como un DAMP.

Elicitores aplicados a plantas

Los métodos de elicitación han alcanzado el reconocimiento de los especialistas como la metodología óptima para la producción de metabolitos secundarios deseables en los sistemas de órganos, células y plantas; entre tales sustancias se encuentran los alcaloides, antocianinas, flavonoides, quinonas, terpenoides y esteroides [1].





En plantas de interés comercial, como hortalizas y cereales, el uso de los elicitores ha incrementado la tolerancia ante diferentes tipos de estrés como sequía, salinidad e infecciones por patógenos [17]. Este punto se puede destacar observando los principales elicitores de plantas, encontrados en el extracto de levadura, fitohormonas (ácido jasmónico y salicílico), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), poli/oligosacáridos (quitina y quitosano), lipopolisacáridos, ácidos nucleicos (ADN, ARN), laminarina, extractos celulares, oligómeros de pectina, células completas (bacterias promotoras del crecimiento y micorrizas), entre otros [17], [20]. Estudios demuestran que aplicaciones de 18 mM de peróxido de hidrógeno sobre la planta del chile resultan eficientes para prevenir infecciones por el geminivirus del mosaico dorado del chile, debido a la inducción de respuestas enlazadas con la defensa [2]. Otra publicación reporta el incremento de glucósidos de esteviol, fitoquímicos responsables del edulcorante de la stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni cv. Morita II), en contestación a la aplicación de H_2O_2 , ácido salicílico y quitosano [18]. También, se ha observado que utilizar foliares de peróxido de hidrógeno y un oligosacárido de xiloglucano incrementan el contenido total de capsiato en chile (*Capsicum annum*) [7]. A pesar de su gran diversidad, solo algunos elicitores se encuentran en el mercado (Tabla 1); los estudios en campo se han visto limitados debido a que su eficacia depende, en gran medida, de las interacciones planta-factor de estrés y dosis de aplicación [17].

TABLA 1. Nombres comerciales de algunos elicitores de plantas.

ELICITOR	NOMBRE COMERCIAL	EFFECTOS	REFERENCIA
Quitosano	Chito Plant	Resistencia a enfermedades por hongos, bacterias y virus. Incremento de la producción de compuesto fenólicos, fitoalexinas y glucanohidrolasas. Inducción de la síntesis de lignina.	[21]
Extracto crudo de levadura	Agrevoex, Romero	Resistencia a enfermedades por hongos y bacterias. Aumento de compuestos fenólicos.	[22],[23]
Oligogalacturonoides	FytoSave	Resistencia a enfermedad por hongos y bacterias. Inducción de síntesis de fitohormonas, como los ácidos jasmónico y salicílico.	[24]
Acilbenzolar-S-metil (análogo del ácido salicílico)	Bion/ Actigard	Resistencia a enfermedades micóticas, bacterianas y virales. Inducción de genes relacionados con la patogénesis (pr, pathogenesis-related).	[25]

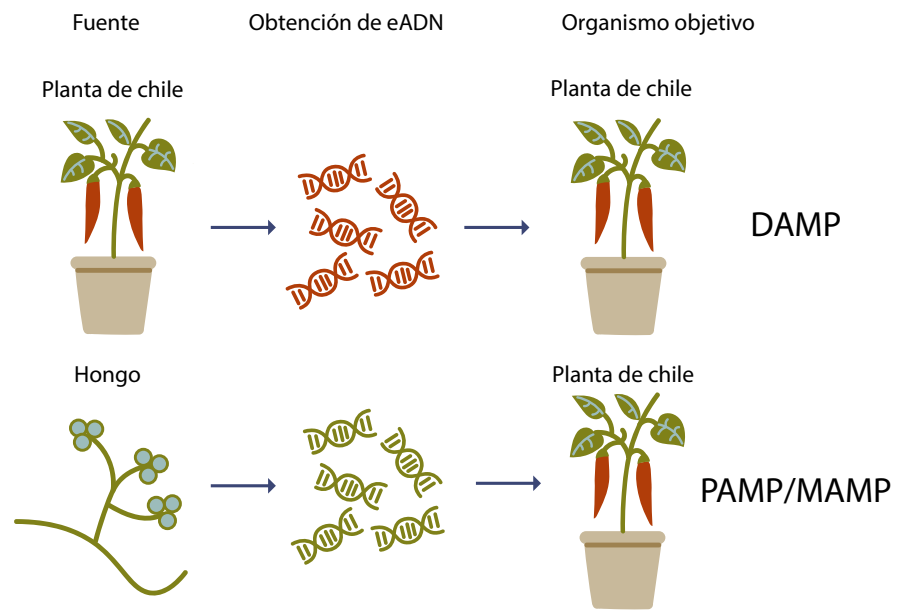


eADN-elicitor de plantas

El ADN extracelular puede catalogarse como un DAMP o PAMP/MAMP, dependiendo de su fuente de obtención; es decir, si parte de la misma especie (eADN propio) o de otras (eDNA no propio) (Figura 1). Hasta el momento, continúan inexplorados los receptores de eADN en las células vegetales, pero se discierne que el no propio puede acceder a las células vegetales mientras que el propio permanece al exterior [26]. Como se mencionó anteriormente, existen varios estudios donde el eADN genera respuestas relacionadas con la activación de la inmunidad en plantas, como es la generación de especies reactivas del oxígeno, activación de MAPKS, incremento de Ca^{2+} intracelular, despolarización de membranas y acumulación de metabolitos secundarios como flavonoides y fenoles [9], [11], [12]. Un estudio reciente demuestra que la aplicación foliar de la mezcla de eADN proveniente de patógenos como la *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, y *Rhizoctonia solani* sobre las plantas de Chile induce al aumento en el contenido de fenoles y flavonoides y la disminución del índice de mortalidad de plantas infectadas con dichos patógenos. Este último efecto sugiere, con creces, un efecto preventivo ante infecciones microbianas [27]. Paralelamente, otra investigación revela que la administración de eADN derivado del *Phytophthora capsici* al sustrato de plantas de Chile infectadas por el mismo patógeno impide que las plantas mueran o desarrollen síntomas graves de la enfermedad [13]. A tal efecto, se ha observado que la aplicación de este elicitor proveniente de *Escherichia coli* en *Arabidopsis thaliana*, induce a la producción de H_2O_2 y deposición de calosa, dichos compuestos se traducen en defensas comunes de activación inmunitaria [28].

Por otro lado, la aplicación de eADN obtenido del maíz (*Zea mays*) provocó un incremento en los flujos intracelulares de calcio y la despolarización de membrana [29]. Un fenómeno similar fue observado en el frijol (*Phaseolus lunatus*), ya que mediante la aplicación de su propia cadena se observaron respuestas como la despolarización de membrana, acumulación de H_2O_2 , activación de MAPKS, así como un menor nivel de infección por la bacteria patógena *Pseudomonas syringae* [11], [29].


FIGURA 1. Clasificación del eADN, según la fuente de obtención. El eADN proveniente de la misma especie o propio se considera un DAMP. Si es obtenido de microorganismos puede estimarse como un PAMP/MAMP, o de otras especies como no propio.



Al respecto, conviene decir que se han explorado respuestas de inmunidad, tales como la producción de H_2O_2 , la inducción de enzimas antioxidantes y el aumento de flavonoides y fenoles totales; dichos procesos se encuentran relacionados con la aplicación temprana y tardía de eADN en el jitomate (*Solanum lycopersicum*); de esta suerte se vislumbra cómo estas respuestas son activadas y mantenidas, por tiempo limitado, para proteger a las plantas del ataque de patógenos [30].

No es extraño aseverar que el eADN como elicitador se encuentra presente en los organismos vivos. Es importante recalcar que la investigación de su comportamiento hormético es sustancial al momento de implementarse en diversas especies; en otras palabras, una misma dosis tendrá resultados distintos para los diferentes tipos de organismos. Desde una perspectiva evolutiva y tecnológica, es fundamental enriquecer los estudios que evalúen los efectos en otros cultivos de interés comercial [31].

Los planteamientos expuestos han cincelado nuevas propuestas que moldean diferentes usos del eADN, las cuales se centran en el manejo de varias dosis y fuentes. Concretamente, se ha observado que este material puede utilizarse en altas concentraciones para suprimir el desarrollo celular de la especie primigenia [14]. Por el contrario, se divisa el efecto adverso al usar bajas dosis de eADN, provocando respuestas favorables y controladas de procesos celulares relacionados con la defensa y supervivencia [10]. Por lo tanto, se conjetura la generación de biopesticidas [15] o bien elicitores [16].



La tecnología marca, en el mejor de los casos, un parteaguas para generar herramientas biotecnológicas que, a su vez, susciten respuestas inmunitarias contra ataques bióticos o abióticos [10].

Perspectivas en el uso del ADN como elicitor de microorganismos

En nuestros días la elicitación ha cautivado el interés de algunos investigadores, debido a la necesidad de entender los mecanismos que potencian la supervivencia de los microorganismos en nichos naturales [32]. Asimismo, algunos autores remarcan la importancia de este tipo de investigación en aplicaciones médicas y agrícolas [8], [32], [33]. Por ejemplo, en el caso de los hongos, se observó que mediante la adición de micelio triturado, proveniente de hongos fitopatógenos, es posible incrementar el rendimiento de la producción de *trichodermina*, un metabolito secundario con actividad antifúngica en *Trichoderma brevicompactum* [8]. En paralelo, investigaciones anteriores advierten que la producción de exoenzimas y compuestos orgánicos volátiles (VOCs), con actividad antifúngica, se incrementan cuando *Trichoderma harzianum-E5* se encuentra en contacto con un micelio inactivo de *Fusarium oxysporum* [33]. En este sentido, los elicitores ingresan a la clasificación de *PAMPS/MAMPS*. Asimismo, se especula que el choque térmico suave, dosis subinhibitorias de antibióticos, exposición a NaCl y H₂O₂, y falta de nutrientes provocan la elicitación de microorganismos [34], impulsando efectos positivos en la supervivencia de los microorganismos.

En cuanto al uso del elicitor de microorganismos, hasta el momento algunas publicaciones han reconocido que el eADN en bacterias, hongos y algas provoca un fenómeno de inhibición del crecimiento y desarrollo, dependiendo de su fuente y dosis [14], [35]. Otra aplicación del eADN derivado del *Phytophthora capsici* sobre el mismo oomiceto muestra un impulso en aumento de las enzimas antioxidantes catalasa y superóxido dismutasa, así como la inducción de Serina/Treonina Cinasa (SAK), relacionada con la activación de la respuesta de defensa celular [13]. Aún hoy se desconoce la aplicación de eADN sobre microorganismos benéficos, aunque se distingue que estos pueden ser elicitados con otro tipo de estresores, como son las nanopartículas, para optimizar los estímulos del crecimiento vegetal [36].



Por lo tanto, se entiende que el objetivo de la elicitación en plantas parte de aumentar un metabolito particular o bien promover la activación del sistema de defensa. Siguiendo esta línea de razonamiento, se propone al eADN como un elicitor de trascendencia en microorganismos benéficos o agentes de control biológico, en pos de aumentar su persistencia al aplicarse en el área agrícola [13]. Para este fin serán necesarios estudios que permitan evaluar tanto los efectos como las formas de aplicación de la muestra sobre estos microorganismos.

Conclusiones

Gracias a los beneficios descritos en el presente trabajo y la literatura anterior listada en el mismo, el eADN ha demostrado poseer una amplia versatilidad en lo que respecta al modo y la dosis de aplicación. En consecuencia, tal cualidad plantea estrategias novedosas y prometedoras en el área de la producción agrícola. *A priori*, su explotación como elicitor se ha enfocado en la prevención de enfermedades vegetales, por medio de aplicaciones foliares o bien en el sustrato de las plantas. Sin embargo, a tal efecto, nuevas propuestas han surgido, como la elicitación de microorganismos benéficos, que constituyen posibles técnicas a implementar dentro del manejo agroecológico de plagas y enfermedades agrícolas.

Agradecimientos

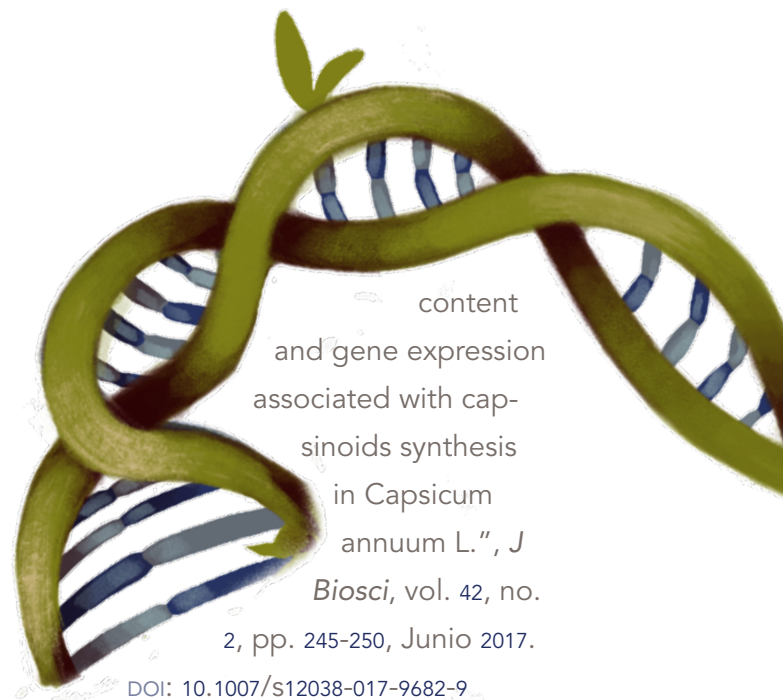
Los autores desean expresar su profundo agradecimiento al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por su valioso respaldo que ha desempeñado un papel fundamental en el desarrollo y realización de la investigación que se presenta en este trabajo. La inversión proporcionada ha permitido llevar a cabo investigaciones de alta calidad que de otro modo no habrían sido posibles.

Referencias

- [1] M. Thakur, S. Bhattacharya, P. K. Khosla, y S. Puri, "Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation," *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, vol. 12, Elsevier GmbH, pp. 1-12, 2019. DOI: 10.1016/j.jarmap.2018.11.004



- [2] L. Mejía Teniente et al., "Hydrogen peroxide protects pepper (*Capsicum annuum* L.) against pepper golden mosaic geminivirus (Pepg-mv) infections", *Physiol Mol Plant Pathol*, vol. 106, pp. 23-29, Abril 2019. DOI: 10.1016/j.pmpp.2018.11.008
- [3] M. C. Vázquez Hernández, I. Parola Contreras, L. M. Montoya Gómez, I. Torres-Pacheco, D. Schwarz, y R. G. Guevara González, "Eustressors: Chemical and physical stress factors used to enhance vegetables production", *Sci Horti*, vol. 250, pp. 223-229, Mayo 2019. DOI: 10.1016/j.scienta.2019.02.053
- [4] H. Zhang, J. Zhu, Z. Gong, y J.-K. Zhu, "Abiotic stress responses in plants," *Nat Rev Genet*, vol. 23, no. 2, pp. 104-119, 2022. DOI: 10.1038/s41576-021-00413-0
- [5] G. Henry, P. Thonart, y M. Ongena, "PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: An update on the diversity of plant immunity elicitors", *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, vol. 16, no. 2, pp. 257-268, 2012.
- [6] L. Mejía Teniente et al., "Use of elicitors as an approach for sustainable agriculture", *Afr. J. Biotechnol*, vol. 9, Septiembre 2009.
- [7] A. Y. Zunun Pérez, T. Guevara Figueroa, S. N. Jimenez Garcia, A. A. Feregrino Pérez, F. Gautier, y R. G. Guevara González, "Effect of foliar application of salicylic acid, hydrogen peroxide and a xyloglucan oligosaccharide on capsate content and gene expression associated with capsinoids synthesis in *Capsicum annuum* L.", *J Biosci*, vol. 42, no. 2, pp. 245-250, Junio 2017. DOI: 10.1007/s12038-017-9682-9
- [8] X. P. Shentu, W. P. Liu, X. H. Zhan, X. P. Yu, y C. X. Zhang, "The elicitation effect of pathogenic fungi on trichodermin production by *trichoderma brevicompactum*", *The Scientific World Journal*, 2013. DOI: 10.1155/2013/607102.
- [9] H. W. Choi y D. F. Klessig, "DAMPs, MAMPs, and NAMPs in plant innate immunity", *BMC Plant Biology*, vol. 16, no. 1., 2016. DOI: 10.1186/s12870-016-0921-2
- [10] N. I. Ferrusquía Jiménez, G. Chandrakasan, I. Torres Pacheco, E. Rico Garcia, A. A. Feregrino Perez, y R. G. Guevara González, "Extracellular DNA: A Relevant Plant Damage-Associated Molecular Pattern (DAMP) for Crop Protection Against Pests—A Review", *Journal of Plant Growth Regulation*, vol. 40, no. 2. Springer, pp. 451-463, Abril 2021. DOI: 10.1007/s00344-020-10129-w
- [11] D. Duran Flores y M. Heil, "Extracellular self-DNA as a damage-associated molecular pattern (DAMP) that triggers self-specific immunity induction in plants," *Brain Behav*





- Immun*, vol. 72, pp. 78-88, Agosto 2018. DOI: 10.1016/j.bbimp.2017.10.010.
- [12] I. Vega Muñoz, A. A. Feregrino Pérez, I. Torres Pacheco, y R. G. Guevara González, "Exogenous fragmented DNA acts as a damage-Associated molecular pattern (DAMP) inducing changes in CpG DNA methylation and defence-related responses in *Lactuca sativa*", *Functional Plant Biology*, vol. 45, no. 10, pp. 1065–1072, 2018. DOI: 10.1071/FP18011
- [13] N. I. Ferrusquía Jiménez et al., "Extracellular self-DNA plays a role as a damage-associated molecular pattern (DAMP) delaying zoospore germination rate and inducing stress-related responses in *Phytophthora capsici*", *Plant Pathol*, vol. 71, no. 5, pp. 1066–1075, Junio 2022. DOI: 10.1111/ppa.13545
- [14] S. Mazzoleni et al., "Inhibitory and toxic effects of extracellular self-DNA in litter: A mechanism for negative plant-soil feedbacks?", *New Phytologist*, vol. 205, no. 3, pp. 1195-1210, Febrero 2015. DOI: 10.1111/nph.13121
- [15] S. Mazzoleni et al., "New perspectives on the use of nucleic acids in pharmacological applications: inhibitory action of extracellular self-DNA in biological systems", *Phytochemistry Reviews*, vol. 13, no. 4, pp. 937-946, 2014. DOI: 10.1007/s11101-014-9386-9
- [16] E. Quintana Rodriguez, D. Duran Flores, M. Heil, y X. Camacho Coronel, "Damage-associated molecular patterns (DAMPs) as future plant vaccines that protect crops from pests", *Scientia Horticulturae*, vol. 237, Elsevier B.V., pp. 207–220, Julio 2018. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.03.026
- [17] W. Desmedt, B. Vanholme, T. Kynndt, "Chapter 5 - Plant defense priming in the field: a review" en *Recent Highlights in the Discovery and Optimization of crop protection products*, Peter Maienfisch, Ir. Sven Mangelinckx, Imprint: Academic Press, pp. 87- 124, 2021, ISBN 9780128210352
- [18] C. Vazquez Hernandez et al., "Controlled elicitation increases steviol glycosides (SGs) content and gene expression-associated to biosynthesis of SGs in *Stevia rebaudiana* B. cv. Morita II," *Ind Crops Prod*, vol. 139, Noviembre 2019, DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111479
- [19] D. Duran-Flores and M. Heil, "Sources of specificity in plant damaged-self recognition," *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 32. Elsevier Ltd, pp. 77–87, Aug. 01, 2016. DOI: 10.1016/j.pbi.2016.06.019
- [20] R. G. Guevara Gonzalez, A. L. Villagomez Aranda, N. I. Ferrusquía Jiménez, M. Martinez Resendiz, *Elicidores en la agricultura: bases teóricas y algunas aplicaciones*,



- España: Editorial Universidad de Almería, 2019. ISBN: 978-84- 1351-007-1
- [21] S. Bautista Baños *et al.*, "Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities," *Crop Protection*, vol. 25, no. 2, pp. 108–118, Feb. 2006, DOI: 10.1016/J.CROPRO.2005.03.010
- [22] R. M. de Miccolis Angelini, C. Rotolo, D. Gerin, D. Abate, S. Pollastro, y F. Faretra, "Global transcriptome analysis and differentially expressed genes in grapevine after application of the yeast-derived defense inducer cerevisane", *Pest Manag Sci*, vol. 75, no. 7, pp. 2020–2033, Julio 2019. DOI: 10.1002/ps.5317
- [23] M. Narusaka *et al.*, "Yeast cell wall extract induces disease resistance against bacterial and fungal pathogens in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica crop*", *PLoS One*, vol. 10, no. 1, Enero 2015, DOI: 10.1371/journal.pone.0115864
- [24] G. van Aubel, R. Buonatesta, y P. van Cutsem, "COS-OGA: A novel oligosaccharidic elicitor that protects grapes and cucumbers against powdery mildew", *Crop Protection*, vol. 65, pp. 129-137, Nov. 2014. DOI: 10.1016/J.CROPRO.2014.07.015
- [25] L. Friedrich *et al.*, "A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco", *The Plant Journal*, vol 10, pp. 61-70, 1996.
- [26] M. L. Chiusano *et al.*, "*Arabidopsis thaliana* response to extracellular dna: Self versus nonself exposure", *Plants*, vol. 10, no. 8, Agosto 2021. DOI: 10.3390/plants10081744
- [27] L. M. Serrano Jamaica, E. Villordo Pineda, M. M. González Chavira, R. G. Guevara-González, y G. Medina Ramos, "Effect of Fragmented DNA From Plant Pathogens on the Protection Against Wilt and Root Rot of *Capsicum annum* L. Plants", *Front Plant Sci*, vol. 11, Enero 2021. DOI: 10.3389/fpls.2020.581891
- [28] S. Yakushiji, Y. Ishiga, Y. Inagaki, K. Toyoda, T. Shiraishi, y Y. Ichinose, "Bacterial DNA activates immunity in *Arabidopsis thaliana*", *Journal of General Plant Pathology*, vol. 75, no. 3, pp. 227-234, 2009. DOI: 10.1007/s10327-009-0162-4
- [29] F. Barbero, M. Guglielmotto, A. Capuzzo, y M. E. Maffei, "Extracellular Self-DNA (esDNA), but Not Heterologous Plant or Insect DNA (etDNA), Induces Plasma Membrane Depolarization and Calcium Signaling in Lima Bean (*Phaseolus lunatus*) and Maize (*Zea mays*)", 2016. DOI: 10.3390/ijms17101659
- [30] I. A. Carbajal Valenzuela *et al.*, "Response of Plant Immunity Markers to Early and Late Application of Extracellular DNA from Different Sources in Tomato (*Solanum lycopersicum*)", *Agriculture*, vol. 12, no. 10, pp. 1587, Octubre 2022. DOI: 10.3390/agriculture12101587



- [31] I. A. Carbajal Valenzuela *et al.*, "Extracellular dna: Insight of a signal molecule in crop protection", *Biology*, vol. 10, no. 10. MDPI, Octubre 2021. DOI: 10.3390/biology10101022
- [32] A. C. P. de Moraes, L. da S. Ribeiro, E. R. de Camargo, y P. T. Lacava, "The potential of nanomaterials associated with plant growth-promoting bacteria in agriculture", *3 Biotech*, vol. 11, no. 7., Julio 2021. DOI: 10.1007/s13205-021-02870-0
- [33] F. Zhang, X. Yang, W. Ran, y Q. Shen, "*Fusarium oxysporum* induces the production of proteins and volatile organic compounds by *Trichoderma harzianum* T-E5," *FEMS Microbiol Lett*, vol. 359, no. 1, pp. 116–123, 2014. DOI: 10.1111/1574-6968.12582
- [34] E. Harish y N. Osherov, "Fungal Priming: Prepare or Perish," *Journal of Fungi*, vol. 8, no. 5. MDPI, Mayo 2022. DOI: 10.3390/jof8050448
- [35] D. Duran Flores y M. Heil, "Growth inhibition by self-DNA: a phenomenon and its multiple explanations", *New Phytologist*, vol. 207, no. 3, pp. 482-485, Agosto 2015. DOI: 10.1111/nph.13542
- [36] N. I. Ferrusquía-Jiménez *et al.*, "Elicitation of *Bacillus cereus*-Amazcala (B.c-A) with SiO₂ Nanoparticles Improves Its Role as a Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) in Chili Pepper Plants," *Plants*, vol. 11, no. 24, Dec. 2022, DOI: 10.3390/plants11243445



AGUAMIEL Y PULQUE: MÁS QUE BEBIDAS TRADICIONALES

AGUAMIEL AND PULQUE: MORE THAN TRADITIONAL BEVERAGES

Juan Manuel Vera Morales¹
Marcela Vargas Hernández¹
Andrés Dector Espinoza²
Diana María Amaya Cruz^{1*}

¹Universidad Autónoma de Querétaro, México.

²CONAHCYT-Universidad Tecnológica de San Juan del Río, México.

*diana.amaya@uaq.mx

Abstract

Pulque is the most important traditional fermented beverage in the central part of the country; and along with agave sap, it is part of Mexico's gastronomic, cultural and religious heritage, due to everything that surrounds its planting, harvesting, collection, fermentation and consumption. In recent years, consumption of these beverages has declined dramatically; however, buyers show a clear interest in traditional fermented beverages such as tepache, pulque and tejuino, due to market trends and their known health benefits. Some of these properties have already been documented, but there are others where quality scientific evidence needs to be generated, as there are numerous beliefs surrounding their consumption. These features represent a light of hope for the rescue of these beverages, which are already recognized as functional because they have well-studied nutritional characteristics and potential as a source of prebiotics and probiotics

Resumen

Pulque es la bebida tradicional fermentada más importante en la zona central del país. Junto con el aguamiel, esta bebida parte de la herencia no solo gastronómica, sino también cultural y religiosa de México, debido al simbolismo que rodea su siembra, cosecha, fermentación y consumo. En los últimos años, el consumo de estas bebidas ha disminuido de manera drástica; sin embargo, los compradores muestran un claro interés en las preparaciones fermentadas tales como el tepache, pulque y tejuino, debido a las tendencias del mercado y a los beneficios conocidos para la salud. Algunas de estas propiedades ya han sido documentadas, pero hay otras en las que es necesario generar evidencias científicas de calidad, pues existen numerosas creencias alrededor de su ingesta. Estos rasgos representan una luz de esperanza para el rescate de dichas bebidas, que incluso ya son reconocidas como funcionales al tener características nutricionales bien estudiadas y potencial como fuente de prebióticos y probióticos que pueden modular la microbiota intestinal de quien las consume. En el presente trabajo se revisaron algunas generalidades, los efectos prebióticos, probióticos y las perspectivas de uso del pulque y el aguamiel.

Palabras clave: aguamiel, bebida funcional, fermentación, prebiótico, probiótico, pulque.



that can modulate the intestinal microbiota of those who consume them. In this work, some generalities, prebiotic and probiotic effects and the perspectives of use of pulque and agave sap were reviewed.

Keywords: pulque, agave sap, fermentation, probiotic, prebiotic, functional beverage.

Introducción

El aguamiel o jugo de agave es una bebida prehispánica no destilada que se obtiene de la savia del maguey pulquero (*Agave mapisaga*, *A. salmiana*, *A. durangensis*, *A. ferox*, *A. atrovirens*, *A. americana*). Dicha planta crece en las zonas semidesérticas de México, incluyendo el estado de Querétaro, donde el número de hectáreas sembradas va en constante crecimiento. A nivel sensorial, el aguamiel se caracteriza por su color amarillento traslúcido, olor herbáceo y sabor dulce, además de su textura viscosa debida a la presencia de polímeros levan y dextranos engendrados por *Leuconostoc mesenteroides* [1, 2]. La producción de aguamiel se da durante 3 a 6 meses de manera continua en magueyes maduros (8 a 10 años). De cada uno se puede obtener normalmente de 270 a 900 l de aguamiel (hasta 1500 litros en casos excepcionales), pero el volumen varía según la etapa de producción, esto es: día 1: 0.4 l, días 2-58: 4-6 l, tiempo restante 0.4 l/día.

En particular, en la especie *Agave mapisaga* se ha reportado que la composición del aguamiel no varía de manera significativa durante los meses de colecta en términos de acidez titulable, pH, porcentaje de materia seca y proteína [3]. El aguamiel contiene 11.5 % de materia seca, de la cual el 75 % corresponde a azúcares; de ellos, el 65 % se compone de glucosa, fructosa y sacarosa, y el 10 % de fructooligosacáridos (FOS). Además, contiene gomas, compuestos fenólicos, 3 % de proteínas y 3 % de minerales, entre los que destacan el potasio, calcio, sodio, hierro, cobre, magnesio, selenio y zinc; el resto lo componen vitaminas hidrosolubles (B y C) y 0.3 % de aminoácidos, principalmente esenciales y neurotransmisores [3, 4].



En este trabajo se revisaron generalidades, efectos prebióticos, probióticos y las perspectivas de uso del pulque y aguamiel.

En esencia, son bebidas funcionales al tener características nutricionales bien estudiadas y fungen como fuente potencial de prebióticos y probióticos que pueden modular la microbiota intestinal de quien las consume.

El aguamiel se puede consumir en fresco, concentrado o fermentado; la fermentación natural espontánea del aguamiel, que ocurre usualmente en condiciones no asépticas, da como resultado el pulque. Se trata de una bebida alcohólica tradicional mexicana con 3 a 5 % de alcohol, un contenido

de sólidos solubles de 7 a 8 °Brix, pH de 3 a 4 y viscosidad entre 1.4 y 1.6 cP [5]. El pulque se puede ingerir en su forma natural o curado, es decir, mezclado con productos como fruta macerada, vegetales, nueces y especias, que le aportan características sensoriales adicionales [6]. La fermentación se da gracias a la gran cantidad de azúcares fermentables y a los microorganismos presentes en el aguamiel, así como a los incorporados durante la colecta, transporte, inoculación y manipulación [3]. El tiempo del proceso varía desde unas 3 horas hasta toda la noche, dependiendo de la calidad del aguamiel, la madurez de la semilla, la región y la temporada de producción. Para determinar si se trata de un pulque fresco o maduro, es decir, precisar el grado de fermentación, se adopta como criterio el desarrollo de la viscosidad gracias a la síntesis de exopolisacáridos (EPS) [7].

La elaboración se da en cuatro etapas que hacen del pulque una bebida ácida y viscosa [6]:

- Fermentación ácida, originada por bacterias homo y heterofermentativas productoras de ácido, como *Lactobacillus* sp. y *Leuconostoc* sp.
- Fermentación alcohólica, resultado del metabolismo de microorganismos generadores de alcohol, como *S. cerevisiae* y *Z. mobilis*.
- Producción de exopolisacáridos (EPS), tales como dextranos y fructanos originados por *Leuconostoc* sp. y *Z. mobilis*.
- Fermentación producida por bacterias del ácido acético como *Acetobacter* y *Gluconobacter*.

Dentro de las especies involucradas en el proceso de fermentación del pulque se han identificado hongos y levaduras como *Rhodotorula*, *Mycoderma*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces*, *Hansenula*, *Pichia* y *Candida*; a la vez que bacterias como *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Sarcina*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Diplobacter*, *Bacillus* y *Zymomona* [8]. La presencia o ausencia de estos microorganismos depende de la semilla de pulque y



las condiciones de manipulación, al igual que de factores edafoclimáticos como la humedad, la temperatura y el suelo [1]. Por otro lado, especies de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* se han identificado como claves en el proceso de producción no sólo de etanol, sino de aminoácidos, vitaminas y compuestos volátiles fundamentales para las características sensoriales del pulque.

El consumo de pulque en 1896 alcanzaba los 364 800 l; en 1923, 375 000 l; sin embargo, en la actualidad estas cifras han disminuido drásticamente hasta los 3 000 l [9]. Semejante caída se debe al creciente consumo de cerveza, al bajo precio de venta del pulque que genera poco beneficio al productor y a que el aguamiel o los cultivos de maguey se han empleado para otros fines; por ejemplo, la elaboración de jarabes de alta fructosa, β -glucanos, dextranos, la entomocultura, la extracción de fibra de ixtle y los biocombustibles [10]. Empero, en estados como Querétaro se está buscando incentivar el cultivo del maguey pulquero, y la producción de aguamiel ha aumentado de 30 000 a 100 000 litros por año; al mismo tiempo, se pretende diseñar rutas cuya finalidad sea estimular el turismo a través de las etapas de producción de esta bebida como una forma de generar valor agregado.

Efecto prebiótico del aguamiel y el pulque

Dentro de las propiedades funcionales del aguamiel y el pulque destaca su efecto prebiótico debido al alto contenido de fructooligosacáridos (FOS). Dichos compuestos se constituyen de 3 a 10 unidades de monómeros de fructosa unidos por enlaces β -2,1 o β -2,6 a una glucosa. Si los FOS tienen más de 10 unidades, estos polisacáridos pertenecen al grupo de los fructanos, y pueden ser inulina, si la estructura del fructano tiene enlaces β -2,1; levan si tiene enlaces β -2,6, y agavina si posee ambos enlaces [11]. Se ha demostrado el efecto prebiótico de los FOS del agave, pues promueven el crecimiento *in vitro* de cepas probióticas como *L. acidophilus*, *B. lactis*, *B. infantis*, *B. animals* y *B. adolescents* [6].

El aguamiel de *Agave salmiana* se ha usado como sustrato para la producción de FOS por parte de tres cepas de hongos: *Aspergillus niger* GH1, *Aspergillus niger* PSH y *Aspergillus oryzae* DIA-MF. Los FOS pueden ser producidos por enzimas que actúan sobre la sacarosa o la inulina, transfructosilando o hidrolizando estos materiales, respectivamente. Las dos cepas empleadas de *A. niger* solo presentaron actividad hidrolítica sobre la sacarosa del



aguamiel; sin embargo, *A. oryzae* DIA-MF tuvo una productividad de 0.84 g FOS/l*h, generando como productos 1-kestosa > 1-nistosa > 1-fructofuranosilnristosa. Por lo tanto, dado su bajo costo, el aguamiel resulta ser un propicio medio de cultivo alternativo para la generación de FOS [12].

Con relación al pulque, existen investigaciones que reportan la presencia de exopolisacáridos (EPS). Estos biopolímeros de carbohidratos de cadena larga y alto peso molecular se conforman por unidades repetitivas ramificadas de glucosa, azúcares sustituidos, galactosa y ramnosa, o derivados de azúcares, unidas a través de enlaces glucosídicos [13]. Los EPS son estables en el entorno gastrointestinal del huésped y su metabolismo produce ácidos grasos de cadena corta beneficiosos para su salud. Según su composición, los EPS se pueden clasificar como homopolisacáridos y heteropolisacáridos. Estos últimos son producidos en su mayoría por bacterias ácido-lácticas mesófilas y termófilas, que los secretan al exterior de la célula, con 3 a 8 monómeros desiguales de longitud. La secreción de los EPS contribuye a las propiedades organolépticas (viscosidad y percepción bucal), tecnológicas (estabilidad) y al efecto biológico del pulque [1].

Dentro de los microorganismos que se han identificado en el pulque y que a su vez se han reportado como productores de EPS están *B. subtilis*, productor de levan; *L. plantarum*, productor de un compuesto de xilosa, glucosa y galactosa; y otro conformado por arabinosa, ramnosa, fucosa, xilosa, manosa, fructosa, galactosa y glucosa; de igual modo, *L. caseii*, que produce un heteropolisacárido conformado de glucosa y ramnosa; y *L. citreum*, productor de un dextrano conformado por D-glucopiranosas [14,15]. Como parte de los efectos reportados de los EPS destacan sus propiedades antioxidantes, antibacteriales, anticoagulantes, fibrinolíticas y, a nivel tecnológico, espesantes, gelificantes y estabilizantes [1].

Efecto probiótico del aguamiel y el pulque

Los probióticos son microorganismos que, administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped, restaurando la composición y función de la microbiota intestinal con la finalidad de prevenir y contribuir a la disminución de los trastornos gastrointestinales. Se reconoce la actividad probiótica del aguamiel gracias a la presencia de bacterias nativas, especialmente las ácido lácticas como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei*,



Leuconostoc mesenteroides; además de otras bacterias y levaduras como *Zygomonas mobilis*, *Kluyveromyces marxianus* y *Saccharomyces cerevisiae* [2].

Al aislar e identificar, mediante la secuenciación del gen *ARNr 16S*, bacterias ácido lácticas del aguamiel y pulque, investigadores identificaron 2 cepas en el primero y 8 en el último, todas ellas grampositivas y catalasa negativas de los géneros *Lactobacillus* y *Pediococcus*, respectivamente. Al evaluar su supervivencia en condiciones simuladas del tracto gastrointestinal, obtuvieron un porcentaje de supervivencia del 47.8 al 89.2 %. Asimismo, es deseable que como probióticos sean capaces de producir sustancias antimicrobianas, por lo que se determinó su efecto inhibitor sobre *S. aureus*, *E. coli* y *H. pylori*. El 60 % de los aislados mostró inhibición sobre los dos primeros y el 100 % sobre el tercero. Este efecto antimicrobiano se da gracias a la producción de catabolitos de azúcar, metabolitos de grasas y aminoácidos, oxígeno y bacteriocinas [8].

Por otra parte, investigadores aislaron y caracterizaron 14 cepas de microorganismos en pulques de 3 regiones de México; en cada una, el grupo y la variedad de microorganismos fue diferente, pero la mayoría de las cepas presentaron una alta resistencia a la lisozima. Con la finalidad de simular el paso por el estómago, todas las cepas fueron evaluadas en un modelo murino de colitis donde *L. plantarum* LBH1064, *L. sanfranciscensis* LBH1068 y *L. composti* LBH1072 disminuyeron la hiperpermeabilidad intestinal y la secreción de citocinas involucradas en la enfermedad inflamatoria intestinal, lo que muestra su potencial probiótico [16].

El efecto probiótico no solo se ha reportado en estudios *in vitro* e *in vivo*, sino también en estudios de intervención. Es así como Márquez Morales y col. [17] evaluaron en estudiantes universitarios el consumo diario durante 8 semanas de 100 ml de una bebida de aguamiel fermentada con bacterias ácido lácticas: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus brevis* (3×10^8 UFC/ml). La ingesta de la bebida redujo significativamente ($p = 0.001$) el estrés académico y moduló la microbiota intestinal al aumentar en gran medida los filos Firmicutes y Bacteroidetes [17].

Perspectivas de uso

Es clave identificar la opinión de los consumidores a la hora de establecer perspectivas de uso para un producto alimentario. Al consultarlos acerca de su percepción sobre el pulque, mencionaron que está determinada por



tres puntos: primero, consideran que se trata de una bebida tradicional mexicana, por eso las pulquerías son percibidas como lugares de historia y tradición; segundo, sin embargo, esos mismos lugares sufren de una reputación desfavorable como sucios y peligrosos; por último, a los consumidores les gusta el color y sabor del pulque, pero no sucede lo mismo con el olor y la textura, los atributos menos valorados y los que pueden mermar su consumo [18].

La edad y la escolaridad también influyen en cómo los consumidores perciben el pulque. En consecuencia, se han identificado tres grupos:

- Con un nivel alto de escolaridad y con edades entre 18 y 25 años tienen una preconcepción de las pulquerías como lugares poco higiénicos, pero una opinión positiva de las características sensoriales del pulque.
- Con un nivel medio de escolaridad y con edades entre 18 y 25 años, desconocen los beneficios derivados del consumo del pulque, pero tienen una buena percepción de las pulquerías y del aspecto tradicional del mismo.
- Entre 48 y 70 años, en su mayoría son personas con bajo nivel de escolaridad, no tienen un mal concepto de las pulquerías y reconocen al pulque como una bebida funcional y tradicional [18].

Por lo tanto, se podrían desarrollar productos a base de pulque para la población con un nivel alto de escolaridad. Tal estrato se encuentra informado e interesado en las características funcionales y, probablemente, está revalorizando los alimentos tradicionales.

Uno de los desafíos al diseñar nuevos productos basados en pulque o aguamiel es que se trata de bebidas muy perecederas, en consecuencia, urge implementar tecnologías que aumenten su vida de anaquel; así se optimizarían aspectos de logística como la comercialización y distribución. Por ejemplo, investigadores desarrollaron pulque curado de tuna roja y emplearon calentamiento óhmico y pasteurización convencional, con la finalidad de incrementar la vida de anaquel, que es menor a 4 días en refrigeración. A través de estas tecnologías, su vida útil se prolongó hasta 12 días; al usar el calentamiento óhmico (60 °C por 8 y 10 min) hubo mejor retención de la calidad sensorial y propiedades fisicoquímicas (pH, °Brix y contenido de



alcohol), mayor contenido de microorganismos (*Lactobacillus* sp.), betalainas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante frente a la pasteurización convencional (63 °C por 30 min) [19].

Los productos que se desarrollen con aguamiel, pulque o maguey representarán una alternativa de uso como pre y probióticos, que será valiosa, por ejemplo, para satisfacer la demanda de este tipo de alimentos por parte de consumidores veganos, vegetarianos o que por alguna condición deben evitar los productos lácteos. Consecuentemente, se pueden diseñar alimentos o bebidas que brinden nuevas experiencias y les den un valor agregado a estos productos tradicionales que son parte de la gastronomía mexicana.

Conclusiones

El aguamiel y el pulque son bebidas con gran tradición e historia en México. No obstante, en años recientes su consumo ha disminuido de manera drástica, por lo que es importante diseñar nuevos productos aprovechando sus propiedades como prebióticos y probióticos, y usando tecnologías emergentes para incrementar su vida de anaquel, que es uno de los factores limitantes en su comercialización y venta. Además, el pulque, al ser una bebida fermentada, su contenido de alcohol restringe su promoción y consumo. Sin embargo, hay una gran área de oportunidad en investigación para identificar, aislar y evaluar el efecto probiótico de los microorganismos responsables de la fermentación del aguamiel, ya que este proceso se ve modulado por diversos factores. Con relación a la comercialización de los productos derivados del aguamiel, hay un gran campo por explorar. Por ejemplo, debido a que los consumidores perciben a las pulquerías como lugares poco higiénicos, un área de oportunidad para trabajar es la reforma de los espacios para la compra y el consumo del pulque, conservando sus raíces y explorando otros puntos de venta. Sin duda el aguamiel y el pulque tienen aún mucho potencial por explotar.

Fuentes de financiamiento

Este trabajo fue solventado por la convocatoria "Investigación vinculada a la atención de problemas nacionales 2021" de la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro.





Referencias

- [1] M. L. Cázares Vásquez *et al.*, "Microbial exopolysaccharides in traditional mexican fermented beverages", *Fermentation*, vol. 7, no. 4. 2021, DOI: 10.3390/fermentation7040249
- [2] S. L. Villarreal Morales *et al.*, "7 - Aguamiel a fresh beverage from agave spp. sap with functional properties", en *Natural Beverages* A. M. Grumezescu and A. M. B. T. N. B. Holban, Eds. Estados Unidos: Academic Press, 2019, pp. 179–208.
- [3] R. I. Ortiz-Basurto, G. Pourcelly, T. Doco, P. Williams, M. Dornier y M. P. Belleville, "Analysis of the Main Components of the Aguamiel Produced by the Maguey-Pulquero (*Agave mapisaga*) throughout the Harvest Period", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 10, pp. 3682–3687, May 2008, DOI: 10.1021/jf072767h
- [4] M. R. Romero López, P. Osorio Díaz, A. Flores Morales, R. Mora Escobedo y N. Robledo, "Chemical composition, antioxidant capacity and prebiotic effect of aguamiel (*Agave atrovirens*) during *in vitro* fermentation", *Rev. Mex. Ing. Química*, vol. 14, no. 2, pp. 281–292, 2015.
- [5] G. D. Álvarez Ríos, C. J. Figueredo Urbina y A. Casas, "Physical, chemical, and microbiological characteristics of pulque: management of a fermented beverage in Michoacán, Mexico", *Foods*, vol. 9, no. 3. 2020, DOI: 10.3390/foods9030361
- [6] A. Escalante, D. R. López Soto, J. E. Velázquez Gutiérrez, M. Giles Gómez, F. Bolívar y A. López Munguía, "Pulque, a traditional mexican alcoholic fermented beverage: historical, microbiological, and technical aspects", *Front. Microbiol.*, vol. 7, 2016, DOI: 10.3389/fmicb.2016.01026
- [7] A. Escalante, M. Elena Rodríguez, A. Martínez, A. López Munguía, F. Bolívar y G. Gosset, "Characterization of bacterial diversity in Pulque, a traditional Mexican alcoholic fermented beverage, as determined by 16S rDNA analysis", *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 235, no. 2, pp. 273–279, Jun. 2004, DOI: 10.1111/j.1574-6968.2004.tb09599.x
- [8] A. Cervantes Elizarrarás *et al.*, "In vitro probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from aguamiel and pulque and antibacterial activity against pathogens", *Applied Sciences*, vol. 9, no. 3. 2019, DOI: 10.3390/app9030601



- [9] G. D. Álvarez Ríos, A. Casas, L. Pérez Volkow, C. J. Figuereido Urbina, J. de Dios Páramo Gómez y M. Vallejo, "Pulque and pulquerías of Mexico City: a traditional fermented beverage and spaces of biocultural conservation", *J. Ethn. Foods*, vol. 9, no. 1, p. 40, 2022, DOI: 10.1186/s42779-022-00155-2
- [10] D. Muñoz Márquez, R. Rodríguez Jasso, R. Rodríguez Herrera, J. Contreras Esquivel y C. Aguilar González, "Producción artesanal del aguamiel: una bebida tradicional mexicana", *Rev. Científica la Univ. Autónoma Coahuila*, vol. 5, no. 10, pp. 12–19, 2013.
- [11] C. O. Carranza, A. Á. Fernandez, G. R. Bustillo Armendáriz y A. López Munguía, "Chapter 15 - Processing of fructans and oligosaccharides from Agave plants", en *Processing and Impact on Active Components in Food*, F. Preedy, San Diego: Academic Press, 2015, pp. 121–129.
- [12] D. B. Muñoz Márquez, J. A. Teixeira, S. I. Mussatto, J. C. Contreras Esquivel, R. Rodríguez Herrera y C. N. Aguilar, "Fructo-oligosaccharides (FOS) production by fungal submerged culture using aguamiel as a low-cost by-product", *LWT*, vol. 102, pp. 75–79, 2019, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.020>
- [13] G. J. Gerwig, "Structural Analysis of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria.", *Methods Mol. Biol.*, vol. 1887, pp. 67–84, 2019, DOI: 10.1007/978-1-4939-8907-2_7
- [14] W. H. Min, X. B. Fang, T. Wu, L. Fang, C. L. Liu y J. Wang, "Characterization and antioxidant activity of an acidic exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* JLAU103.", *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 127, no. 6, pp. 758–766, Jun. 2019, DOI: 10.1016/j.jbiosc.2018.12.004
- [15] N. H. Maina, M. Tenkanen, H. Maaheimo, R. Juvonen y L. Virkki, "NMR spectroscopic analysis of exopolysaccharides produced by *Leuconostoc citreum* and *Weissella confusa*", *Carbohydr. Res.*, vol. 343, no. 9, pp. 1446–1455, Jul. 2008, DOI: 10.1016/j.carres.2008.04.012
- [16] E. Torres Maravilla et al., "Identification of novel anti-inflammatory probiotic strains isolated from pulque", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, no. 1, pp. 385–396, 2016, DOI: 10.1007/s00253-015-7049-4
- [17] L. Márquez Morales, E. G. El-Kassis, J. Cavazos Arroyo, V. Rocha Rocha, F. Martínez Gutiérrez y B. Pérez Armendáriz, "Effect of the intake of a traditional Mexican beverage fermented with lactic acid bacteria on academic stress in

medical students", *Nutrients*, vol. 13, no. 5. 2021, DOI: 10.3390/nu13051551

- [18] E. Rojas Rivas, F. C. Viesca González, H. J. Favila Cisneros y F. Cuffia, "Consumers' perception of a traditional fermented beverage in Central Mexico", *Br. Food J.*, vol. 122, no. 2, pp. 708–721, Jan. 2020, DOI: 10.1108/BFJ-05-2019-0317
- [19] A. E. Alcántara Zavala and J. de Dios Figueroa Cárdenas, "Shelf life, physicochemical and antioxidant properties of red cactus pear pulque processed by ohmic heating and by conventional pasteurization", *Int. J. Gastron. Food Sci.*, vol. 28, p. 100497, 2022, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100497>



EFEECTO DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LOS INSECTOS POLINIZADORES DEL CORREDOR INDUSTRIAL GUANAJUATO

EFFECTS OF AIR POLLUTION ON INSECT POLLINATORS
ALONG THE GUANAJUATO INDUSTRIAL CORRIDOR

Ana Rosa Rocha Vallejo¹
José de Jesús Esparza Claudio²
Johnattan Hernández Cumplido³
Domancar Orona Tamayo²
Elizabeth Quintana Rodríguez^{2*}

¹Universidad Tecnológica de León, León,
Guanajuato, México.

²Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías
Competitivas, Guanajuato, México.

³Universidad Nacional Autónoma de México,
Ciudad de México, México.

*equintana@ciatec.mx



Abstract

Industrial operations have brought important consequences such as large factories and favorable changes in the economic and social structure, but they also bring along a decline in the quality of the environment; this point can be highlighted by observing the emission of air pollutants, which have increased in recent decades. One of the places that stand out for this type of work is the industrial corridor of the state of Guanajuato, Mexico, especially the various companies located in the area that includes the municipalities of Celaya, Salamanca, Irapuato, Silao and León. In parallel, the area is also characterized by its abundant agricultural activity of crops particularly assisted by insects and other animals that the flowers attract for pollination. Pollutants such as ozone (O_3) have negative effects on the dispersion of volatile organic compounds (voc) emitted by flowers. This research analyzes the main pollutants that impair the industrial corridor, as well as their

Resumen

La operación industrial ha traído importantes consecuencias como las grandes fábricas y beneficios en la estructura económica y social, sin embargo acarrea consigo el declive en la calidad del ambiente; este punto se evidencia en el incremento de la polución del aire de las últimas décadas. Uno de los lugares que se distinguen por este tipo de quehaceres es el corredor industrial del estado de Guanajuato, México, especialmente las diversas empresas asentadas en la zona que abarca las municipalidades de Celaya, Salamanca, Irapuato, Silao y León. De manera paralela, la zona también se caracteriza por su abundante actividad agrícola de cultivos asistidos por insectos y otros animales que las flores atraen para su polinización. Los contaminantes como el ozono (O_3) comportan efectos negativos sobre la dispersión de compuestos orgánicos volátiles (cov) emitidos por las flores. En la presente investigación se analizan los principales contaminantes que menoscaban el corredor industrial, así como su repercusión en el servicio de polinización. La información aquí expuesta puntualiza la urgente necesidad de sopesar la contaminación del aire como un factor negativo en el servicio de polinización mediada por insectos.

Palabras clave: contaminación del aire, cov florales, declive de polinizadores, ozono.



impact on pollination service. The information presented here points to the urgent need to consider air pollution as a negative factor in insect-mediated pollination service.

Keywords: Air pollution, floral vocs, pollinator decline, ozone.

Introducción

La polinización consiste en la fecundación entre gametos a través del transporte de granos de polen desde las anteras, desembocando en el estigma de la misma flor (autopolinización), o de otra (polinización cruzada). Constituye un proceso esencial para el cultivo agrícola [1]. El servicio de polinización puede llevarse a cabo mediante el arrastre del viento o agua, o bien, a través de un vector biológico como consecuencia de los hábitos de alimentación de ciertos animales. Los más comunes incluyen insectos (polinización entomófila) como las abejas, abejorros, avispas, polillas, y en otros casos, aves y mamíferos [2]. La polinización permite la obtención de alimentos de consumo humano, por lo que cualquier alteración implica un golpe directo en la economía y salud de la sociedad [3].

Por desgracia, las poblaciones de insectos han experimentado reducciones importantes en los últimos años; algunos factores que han contribuido a estas pérdidas son el cambio de uso de suelo, el calentamiento global y la nitrificación [4]. El efecto de la contaminación atmosférica también ha provocado la acelerada extinción de artrópodos e impactado negativamente en la interacción entre plantas y polinizadores; pese a ello, aún escasea la atención a este problema por parte de la comunidad científica. Investigaciones recientes han valorizado que los principales contaminantes del aire son los óxidos de nitrógeno (NO_x) y el ozono (O_3) [5]. Por otro lado, es sabido que las plantas atraen a sus polinizadores mediante sus aromas florales, producidos por compuestos orgánicos volátiles (COV); en otras palabras, es fundamental la presencia, concentración y proporción de los COV para que el insecto localice a su fuente de alimentación [6]. En síntesis, dichos conta-





minantes atmosféricos alteran estas emisiones al encubrirlas y diluirlas en el ambiente, y terminan por estropear la encomienda de los polinizadores [3].

México carece de evidencia experimental respecto al efecto de la contaminación atmosférica sobre los polinizadores, su emplazamiento floral y la producción de cultivos. De esta suerte se presenta al corredor industrial de Guanajuato como prospecto ideal de estudio para investigar dicho efecto, debido a que es una zona emisora de contaminantes en altas concentraciones y, al mismo tiempo, importante para la producción agrícola [8].

En la presente investigación se analizan los principales contaminantes que menoscaban el corredor industrial, así como su repercusión en el servicio de polinización. La información aquí expuesta puntualiza la urgente necesidad de sopesar la contaminación del aire como un factor negativo en el servicio de polinización mediada por insectos.

Polinizadores a nivel mundial

Existe evidencia de al menos 115 especies de plantas aprovechadas por el hombre que dependen de la polinización por insectos. Además, se estima que entre el 5 y 8 % de la producción mundial de los cultivos (con un valor de mercado anual de 235-577 mil millones de dólares) es directamente atribuible a la polinización animal [9]. Aparte de la producción de alimentos y bebidas, las industrias textil, cosmética y farmacéutica cuentan también con este servicio para la generación de productos [10]. Dentro de los polinizadores de mayor importancia en el mundo se encuentran las abejas europeas (*Apis mellifera*), las cuales abonan con aproximadamente el 80 % de la polinización entomófila [11]. Además de las abejas, otros artrópodos como escarabajos, avispas, mariposas y polillas también contribuyen con este servicio [12]. En el caso de los mamíferos, los murciélagos conforman al coro de polinizadores de plantas de excelencia económica como el agave. También desempeñan esta labor los colibríes, monos, lémures, zarigüeyas, musarañas y otros roedores, lagartijas, moscas, hormigas, mosquitos, caracoles, babosas e incluso salamandras [13].

El declive documentado en las poblaciones de insectos alrededor del mundo ha sido presuntamente ocasionado por la aumentada toxicidad del aire [12], [13] y disminuciones indirectas, debido al desequilibrio con otros organismos de su entorno [14-16]. A través del comportamiento de los insectos se puede observar el agravante de la polución aérea, ya que perjudica su sentido de orientación guiado por el olfato; estos organismos además lo emplean como medio de comunicación para localizar alimentos, conespecíficos, sitios de anidamiento, e inclusive para eludir depredadores [16]. Por ejemplo, los polinizadores perciben señales químicas en el aire para loca-



lizar flores; como consecuencia, el transporte puede verse obstaculizado o, peor aún, destruido por las reacciones químicas contaminantes [17]. Un estudio analizó el efecto de contaminantes como O₃ sobre los *COV* β-mirceno, β-linalool y β-ocimeno (comúnmente encontrados en los racimos de flores), en el proceso se determinó que estos compuestos poseen una alta reactividad a los contaminantes [18]. Al evaluar las amenazas que pesan sobre los polinizadores, se exhorta a la concientización de la presencia de elementos nocivos en el aire.

Polinización en México

Los cultivos de mayor producción en México, de acuerdo con la Encuesta Nacional Agropecuaria, son el maíz, trigo, sorgo y una variedad de hortalizas (Tabla 1). El 85 % de las especies son de frutas, verduras o semillas, tales como jitomate, fresa y cacao; todos consumidos en el país, dependen de los polinizadores para su productividad (Tabla 2) [19].

TABLA 1. Producción anual por cultivo de planta de acuerdo con la Encuesta Nacional Agropecuaria (2019).

CULTIVO	TONELADAS	CULTIVO	TONELADAS
MAÍZ BLANCO	25 811 328.1	CEBOLLA	999 487.2
MAÍZ AMARILLO	5 400 839.4	FRIJOL	828 113.9
TRIGO	3 735 122.9	CALABAZA	651 065.5
SORGO	3 671 068.0	SOYA	310 411.6
JITOMATE	2 860 305.2	ARROZ	157 423.7
CHILE	1 981 390.0	AMARANTO	5 352.5

Fuente. Encuesta Nacional Agropecuaria, 2019.

TABLA 2. Producción por cultivo.

CULTIVO	TONELADAS	TIPO DE POLINIZACIÓN	REFERENCIA
NARANJA	3 500 105.8	Entomófila (abejas principalmente)	[20]
AGUACATE	2 013 590.9	Entomófila (abejas principalmente)	[21]
PLÁTANO	1 927 485.3	Anemófila	[22]
LIMÓN	1 351 055.8	Entomófila (abejas principalmente)	[23]
MANZANA	406 211.1	Entomófila (abejas principalmente)	[24]
UVA	316 213.9	Anemófila o entomófila (abejas principalmente) dependiendo del cultivar	[25]
FRESA	233 467.5	Entomófila (abejas principalmente)	[26]
CACAO	24 265.6	Entomófila (moscas pequeñas)	[27]

Fuente. Encuesta Nacional Agropecuaria, 2019.



El mayor ingreso económico del país es generado por los cultivos dependientes de polinizadores, por tal motivo es crucial defender a los insectos encargados de esta faena para asegurar el proceso del mismo [28]. De forma efectiva, diversas especies de abejas y abejorros —algunos nativos de la región—, llevan a cabo los servicios de polinización en la labranza central (chile, jitomate, cucurbitáceas y cacao) [20], [29], [30]. Tal es el caso del *Bombus ephippiatus* Say (*Hymenoptera*), abejorro nativo localizado en el vasto territorio mexicano, exceptuando Baja California y península de Yucatán [30]. Estos insectos recorren plantas como el tomate (de la familia *Solanaceae*) y el arándano (*Ericaceae*) [31].

Aún en nuestros días se desconoce el número exacto de polinizadores dentro del país, así como de recursos florales necesarios para su supervivencia; sin embargo, el servicio que han otorgado permite una gran producción y, en consecuencia, un mayor ingreso económico. México cuenta con más de 21 mil especies de angiospermas que requieren de polinización efectuada tanto por abejas nativas como por legiones de distintos polinizadores [32]. Aunado a esto, es necesario reafirmar que familias de plantas nativas utilizadas en la gastronomía mexicana, como nopales, calabaza, frijol, aguacate, pitahaya, vainilla, chile, agave y cacao, precisan del servicio de transferencia de polen [34-39].

México es el principal cosechador y distribuidor global de aguacate; en el periodo de enero-julio de 2021, las exportaciones se cuantificaron en 576 286 toneladas, principalmente enviadas a Estados Unidos [33]. Cultivos como el aguacate, pimienta y jitomate generan una cuantiosa suma en el país, y por tal motivo la pérdida de polinizadores o la disminución de su efectividad implican un efecto adverso tanto para la producción como para los ingresos. Se estima que la obtención de aguacate genera un valor de 11 025 767 000 pesos [34]. En el caso del jitomate, México también domina el mercado mundial, con una aportación de 25.11 % del valor total de las exportaciones [35].

Polinización: perspectivas para el estado de Guanajuato











El estado de Guanajuato cuenta con una superficie de 1 millón 480 mil hectáreas destinadas a la producción de cultivos agrícolas. En los municipios de Celaya, Yuriria, Moroleón, Irapuato, Romita, Juventino Rosas, Purísima del





TABLA 3. Cultivos localizados en el corredor industrial de Guanajuato y su tipo de polinización.

Rincón, San Luis de la Paz, Salvatierra y Salamanca se encuentran los cultivos de frijol, manzana, alfalfa, tomate, chabacano, fresa, jícama, cebolla, zanahoria, sorgo y brócoli. Dichos son polinizados por abejas y abejorros, además los cultivos se ubican en núcleos de actividad humana (Tabla 3).

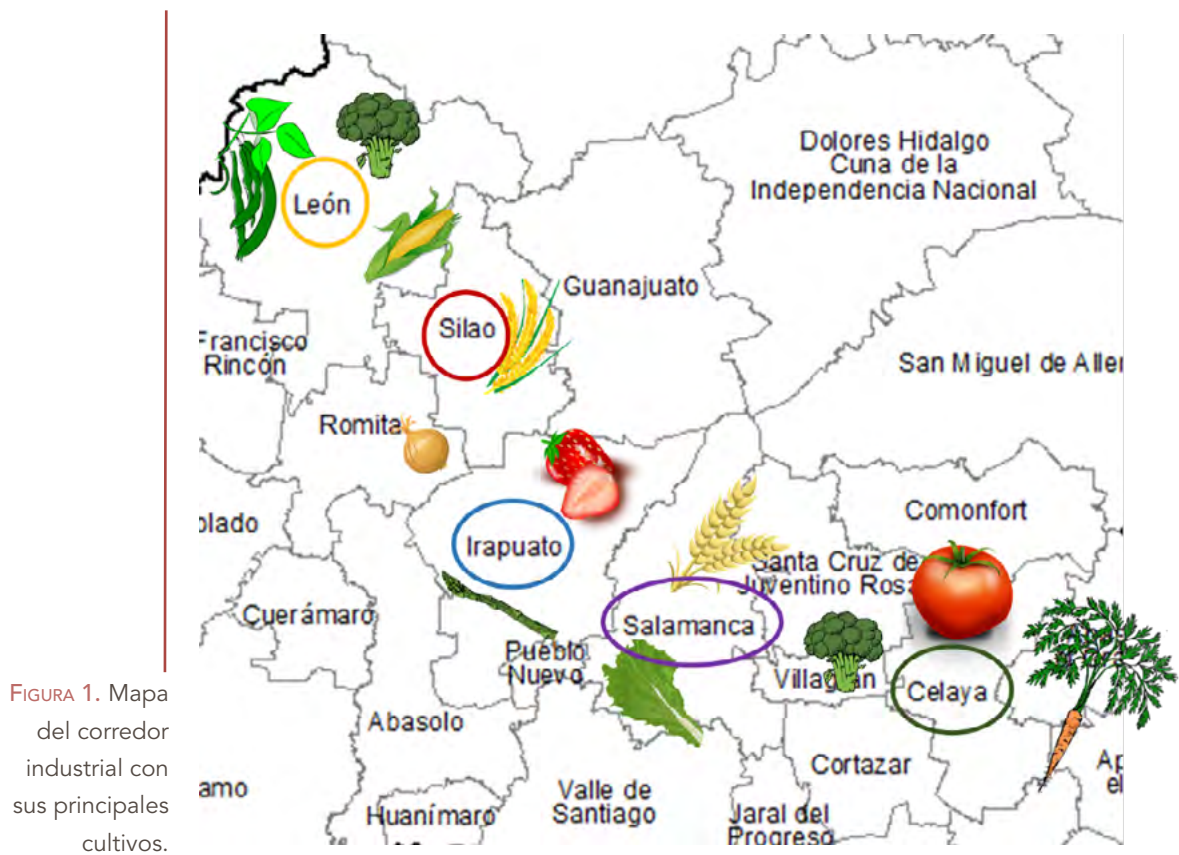
CULTIVO	TIPO DE POLINIZACIÓN	FIGURA	REFERENCIA
MAÍZ	Anemófila		[36]
TRIGO	Anemófila		[37]
CEBADA	Anemófila		[38]
ESPARRAGO	Entomófila (abejas y abejorros)		[39]
ZANAHORIA	Entomófila (principalmente abejas)		[40]
JITOMATE	Entomófila (principalmente abejorros)		[41]
LECHUGA	Entomófila (abejas y moscas)		[42]
BRÓCOLI	Entomófila (principalmente abejas)		[43]
FRESA	Entomófila (abejas)		[26]
CEBOLLA	Entomófila (abejas y moscas)		[44]

Los municipios de Irapuato, Celaya, Salamanca, Silao y León forman parte del corredor industrial de Guanajuato; además de contar con empresas, también son una zona agrícola que produce frijol, tomate, fresa, sorgo y brócoli (Figura 1). Si bien, los cultivos cosechados en la mayor parte de la superficie son independientes de los polinizadores, también hay algunos de exportación con gran valor monetario que sí requieren de estos agentes, tal es el caso del brócoli, fresa, jitomate y espárrago. En 2020, estas cosechas generaron una ganancia de 1866 millones de dólares [45]. Asociado a ello, Guanajuato es el segundo lugar en producción de espárragos a nivel nacional y ocupa el tercero en cebolla y fresa [8]. Conjuntamente, el área metropolitana de León es reconocida como la mayor exportadora de lechuga y brócoli (fresco y congelado); en 2017 distribuyó cerca de 374 mil




toneladas con una derrama de 408 MDD. Dicho sea de paso, ambos productos dependen de la polinización por insectos [46].

En Irapuato la superficie agrícola destinada para siembra es de 57 626 hectáreas; allí se cultiva, principalmente, maíz, alfalfa, trigo y fresa; en particular, esta última es dependiente de insectos polinizadores [47]. A pesar de que Irapuato es conocido como pieza clave en la producción de fresa, también se cultivan alimentos como el espárrago, brócoli, calabaza, zanahoria y lechuga [48]; se estima que el 90 % del espárrago producido se exporta a Estados Unidos, Japón y Europa [49]. Paralelamente, Celaya se destaca por sus actividades agrícolas en la obtención de hortalizas como jitomate y zanahoria; de esta última figura como el mayor productor a nivel nacional, con una aportación de 12 004 toneladas [50].



Relevancia económica del servicio de polinización

En el entorno, los sistemas ecológicos y su capital natural funcionan como protagonistas para el funcionamiento y soporte de la tierra, ya que contribuyen al bienestar humano y, por tanto, asumen parte del valor económico total del planeta [51]. La polinización es un capital natural vital y se realiza en ecosistemas de la misma índole [52]. Los agentes polinizadores integran

A decorative illustration on the left side of the page shows several bees flying along a winding, light blue path that curves across the page. The bees are depicted in various positions, some in flight and others resting on the path. The path starts from the top left and winds downwards and then back up towards the right side of the page.

parte crucial del ecosistema porque el beneficio y biodiversidad que brindan al planeta los liga íntimamente a la vida, y sus contribuciones son visibles gracias a la producción de alimentos; no obstante, su actividad no recibe retribución económica alguna. Nos referiremos a esa remuneración no cubierta como *valor potencial de la polinización* [53].

En 1997 se propuso asignar un precio al capital natural, tal como los servicios ecosistémicos (polinización), otorgándole valores estimados entre 33-125 MMDD por año [54]. Tomemos como ejemplo un recurso vital como el agua, que ostenta un valor incalculable, y ninguna persona podría pagar completamente por su uso diario. En este sentido, la naturaleza posee un enorme e inestimable valor económico [56]. Actualmente se ha estimado que el medio de producción de los servicios ecosistémicos ronda entre 400-539 MMDD por año [55].

Como hemos mencionado al principio, un ejemplo clásico de servicio ecosistémico altamente determinante es la polinización. Se trata de agentes que interactúan con la flora y la polinizan gratuitamente [57]. En ese aspecto, los científicos determinaron el valor económico mundial de esta labor, respecto a los principales cultivos alimentarios en un estimado de 217 MMDD [58]. Es claro que el servicio de polinización es de un capital incalculable, y sin él las pérdidas económicas en mermas de alimentos serían catastróficas, entre 266-434 MDD en un solo año e incrementarían con el paso del tiempo [59].

En México el valor potencial de la polinización agrícola varía dependiendo de la importancia de la producción. Por ejemplo, en el periodo de 2003 fue 2360 MDD, e incrementó paulatinamente hasta llegar a los 4400 MDD en 2018 [60]. En específico, la agricultura guanajuatense generó una demanda potencial de polinización que rondó de 50 a 78 MDD en el año 2018 [60]. Como referencia, se estima que el servicio de polinización alcanza un valor global de 127-184 MMDD [61], [62]. Los efectos negativos que conllevan la pérdida total de polinizadores, en particular las abejas, desencadenarían un desastre y disminución alimentaria y económica a nivel global.

Contaminación del aire en el corredor industrial de Guanajuato

Guanajuato se distingue de otros estados por la extensa proliferación de industria y fabricación que abarca áreas como la agroindustrial, automotriz, químicos, cuero, calzado, textil, farmacéutica y cosmética. Sin embargo, de



manera adversa se han identificado en la atmósfera diversos agentes contaminantes [63] :

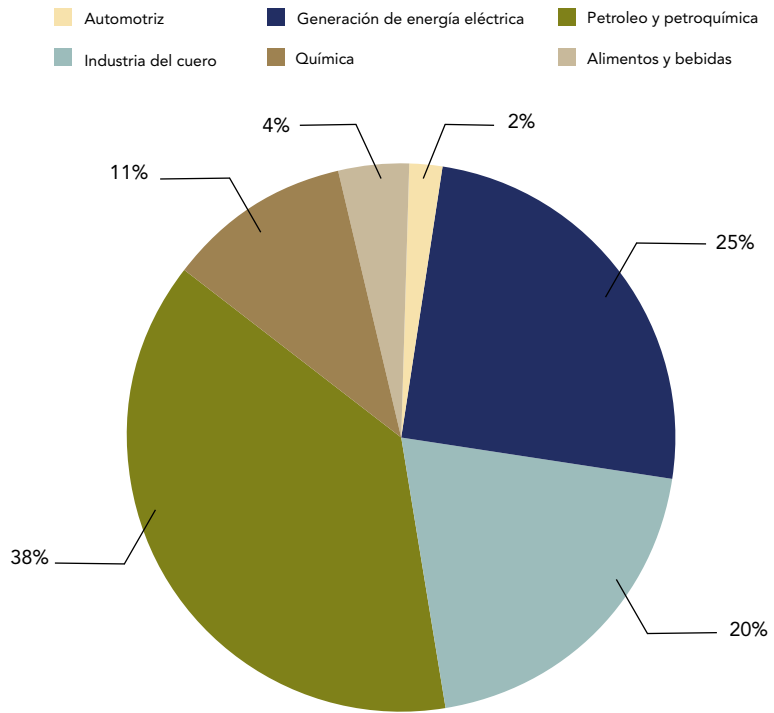
- Compuestos orgánicos (metano, tolueno, n-butano, i-pentano, etano, benceno, n-pentano, propano y etileno)
- Dióxido de azufre (SO_2)
- Dióxido de carbono (CO_2)
- Dióxido de nitrógeno (NO_2)
- Monóxido de carbono (CO)
- Partículas menores a 10 micrómetros (PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$)
- Metano (CH_4)
- NOX

En Salamanca hay una excesiva emisión de SO_2 , mientras que en Irapuato y Celaya predomina el NOX [63]. Esta zona industrial presenta factores de estrés como el tránsito vehicular, actividades de refinería, combustión con gas LP, quema agrícola, uso de solventes, generación de energía eléctrica y uso de pesticidas [64]. En cuanto a las emisiones contaminantes, el 38 % de NOX más los compuestos orgánicos son producto del tránsito vehicular, y el 57 % del registro vehicular se concentra en el corredor industrial de Celaya, Irapuato, León, Salamanca y Silao [65].

En 2020 se manifestaron múltiples reportes del recalcitrante aumento en las quemadas agrícolas, viéndose abrasados los municipios de Celaya, León, Salamanca, Salvatierra e Irapuato [65]. Para empeorar las cosas, la industria ladrillera emite altas concentraciones de PM_{10} , $\text{PM}_{2.5}$ y SO_2 , contribuyendo, si cabe, a la contaminación del estado, especialmente en el municipio de León, debido a su deficiente regulación ambiental. A su vez, la petroquímica y la generación de energía eléctrica ocasionan la mayor cantidad de emisiones de NOX (Figura 2). En el caso de la emisión de compuestos orgánicos, la industria petroquímica contribuye con un 48 %. De forma paralela, la automotriz es responsable de un 38 % en este rubro (Figura 3).

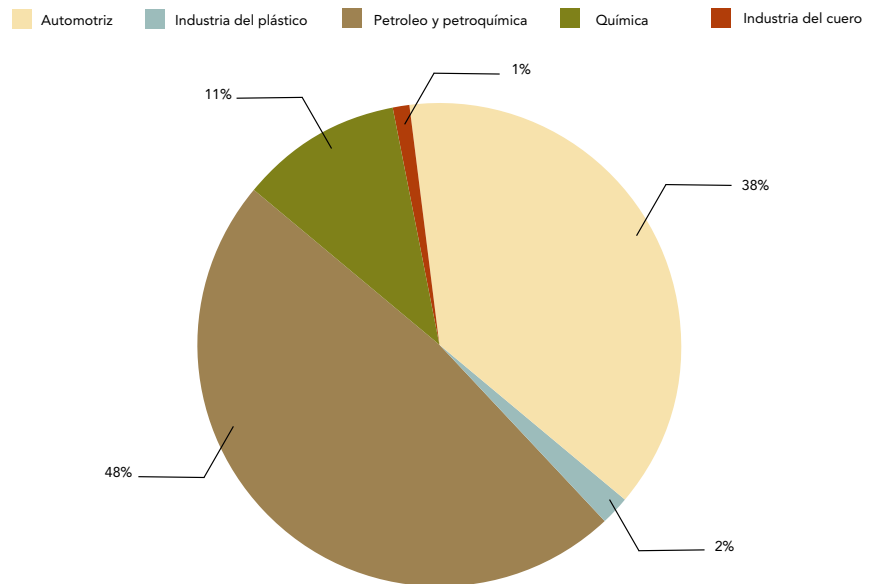


FIGURA 2. Emisión de NOx por industrias alojadas en el estado de Guanajuato en el año 2017.



Fuente: Inventario de Emisiones de Contaminantes Criterio y Precursores del Estado de Guanajuato, 2017.

FIGURA 3. Emisión de compuestos orgánicos por industrias alojadas en el estado de Guanajuato en el año 2017.



Fuente: Inventario de Emisiones de Contaminantes Criterio y Precursores del Estado de Guanajuato, 2017.

En la mayoría de los casos, las altas emisiones de O₃ son consecuencia de la reacción entre NOx y COV; bajo esta circunstancia, en 2019 los municipios



de Salamanca, Irapuato, Celaya y León rebasaron las concentraciones del límite establecido [64]. En México, se efectuaron estudios que auguran para el 2050 la desaparición del 58 % de especies polinizadoras, por efecto del cambio climático y emisiones de gases [66]. Como se ve, faltan investigaciones que concienticen acerca del impacto de los contaminantes aéreos sobre el servicio de polinización. Es menester realizar investigaciones que expongan los efectos contaminantes del corredor industrial, ya que es una zona ideal para este análisis.

Efecto de los contaminantes atmosféricos sobre la emisión de *COV* florales

El éxito en la polinización entomófila se centra en la capacidad del insecto para localizar una fuente, mediante la comunicación química influida por aromas, color y forma de las flores. Los *COV* que emiten las flores son prueba de esta comunicación química, ya que se difunden en el ambiente y son detectados por los polinizadores [67]; asimismo, actúan como fuente de información para los agentes, les permite evaluar la calidad y cantidad de alimento para decidir si realizarán la visita a la flor [6]. Es decir, los polinizadores se distinguen por su capacidad de discernir entre diferentes especies de flores mediante los *COV* [68].

El antagonico principal dentro del coro de contaminantes generados en el mercado industrial del estado es el O_3 ; su presencia daña directamente la mezcla y proporción de *COV* en los racimos, además de coadyuvar la producción de nuevos volátiles, derivados de la reacción del ozono [51]. Un análisis reciente publicó que el incremento en la concentración de O_3 afecta la capacidad de los agentes para detectar *COV* florales y perturba la emisión de *COV* en las plantas [51], [69]. Estudios de electroantenografía mostraron que los abejorros presentan una capacidad de detección reducida de estos compuestos cuando hay un incremento de O_3 en el ambiente [52], mientras en las abejas se ostenta un resultado similar que repercute en su respuesta de detección [17]. Ciertamente es que la contaminación por ozono causa daños en la vegetación; se presenta como la degradación de clorofila y color amarillento en las hojas, así como estragos en la atracción del polinizador.

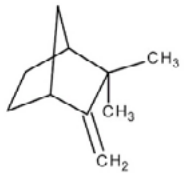

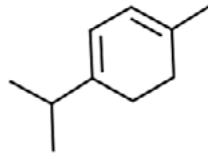
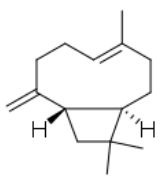
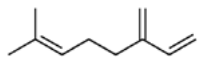
La reacción de las flores frente a los químicos presentes en la atmósfera (O_3 , NO_3 y HO) puede variar desde la eliminación de un átomo de hidrógeno



hasta la incorporación de moléculas en la estructura química, con aceleraciones de reacción únicas para cada *COV* [69, 70]. De tal manera, la señal es degradada, pierde la especificidad y cambia las proporciones de los *COV*. A su vez, estas reacciones conducen a la ruptura de los *COV* y la formación de nuevos volátiles.

TABLA 4. Modificación de los *COV* por reacción con los contaminantes del aire.

Por ejemplo, las reacciones que se llevan con los volátiles (β -mirceno y β -ocimeno con contaminantes HO y O₃) conducen la formación de compuestos imperceptibles para los polinizadores, como acetona, 4-vinil-4-4-pentanal y 4-metil-3,5-hexadienal (Tabla 4) [71].

COV	ESTRUCTURA QUÍMICA	CONTAMINANTE	PRODUCTO	REFERENCIA
CANFENO		HO, O ₃	CANFENILONA	[72]
		HO	ACETONA	
SABINENO		HO, O ₃	ACETONA	[73]
		O ₃	3-OXO-SABINAKETONA	
A-TERPINENO		HO, O ₃	ACETONA	[74]
CARIOFILENO		O ₃	FORMALDEHÍDO	[75]
MIRCENO		HO	FORMALDEHÍDO	[74]

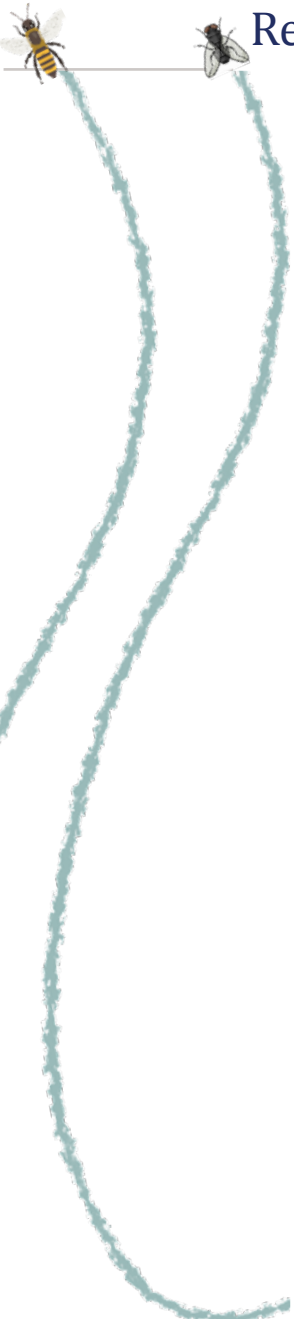
Se ha demostrado que los NO_x emitidos por los motores de diésel alteran la composición de los *COV* florales, e intervienen en la localización de huéspedes [18]. Estos estudios atestiguan que las reacciones de los *COV* junto a los contaminantes del aire alteran las percepciones de los polinizadores, debido a la formación de otros compuestos químicos que diluyen la señal en el ambiente.



Conclusiones

En México apenas comienza el escrutinio de los contaminantes habituales que podrían intervenir en el servicio de polinización. Destaca en este aspecto la zona del corredor industrial, que funge como productor, protagonista a nivel nacional, de cultivos dependientes de polinizadores y también como antagonista por favorecer a los contaminantes aéreos. En la presente investigación se postulan los efectos adversos en el servicio de polinización debido a la formación de nuevos compuestos o la dilución de los COV. Hemos concluido que los contaminantes aéreos intervienen en la polinización, por lo que el corredor industrial resulta prospecto de estudio para analizar el efecto negativo de los contaminantes sobre los compuestos orgánicos volátiles florales y, por tanto, la polinización.

Referencias

- 
- [1] E. Gute, R. O. David, Z. A. Kanji y J. P. D. Abbatt, "Ice nucleation ability of tree pollen altered by atmospheric processing," *ACS Earth Sp. Chem.*, vol. 4, no. 12, pp. 2312-2319, 2020.
- [2] R. G. Porto et al., "Pollination ecosystem services: A comprehensive review of economic values, research funding and policy actions," *Food Secur.*, vol. 12, no. 6, pp. 1425-1442, 2020.
- [3] S. Bänsch, T. Tschardt, D. Gabriel y C. Westphal, "Crop pollination services: Complementary resource use by social vs solitary bees facing crops with contrasting flower supply," *J. Appl. Ecol.*, vol. 58, no. 3, pp. 476-485, 2021.
- [4] D. L. Wagner, R. Fox, D. M. Salcido y L. A. Dyer, "A window to the world of global insect declines: Moth biodiversity trends are complex and heterogeneous," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 118, no. 2, p. e2002549117, 2021.
- [5] C. M. Reitmayer, J. M. W. Ryalls, E. Farthing, C. W. Jackson, R. D. Girling y T. A. Newman, "Acute exposure to diesel exhaust induces central nervous system stress and altered learning and memory in honey bees," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 5793, 2019, DOI: 10.1038/s41598-019-41876-w
- [6] L. Conchou, P. Lucas, C. Meslin, M. Proffit, M. Staudt y M. Renou, "Insect odorscapes: from plant volatiles to natural olfactory scenes," *Front. Physiol.*, vol. 10, pp. 972, 2019.



- [7] J. A. Riffell et al., "Flower discrimination by pollinators in a dynamic chemical environment," *Science*, vol. 344, no. 6191, pp. 1515-1518, 2014.
- [8] sDAYR, "Diagnóstico agrológico del Estado de Guanajuato," Guanajuato, 2020.
- [9] S. G. Potts, T. Breeze y B. Gemmill Herren, "Crop Pollination," in *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, N. K. Van Alfen, Ed. Oxford: Academic Press, 2014, pp. 408-418.
- [10] G. Martin, C. Fontaine, F. Accatino y E. Porcher, "New indices for rapid assessment of pollination services based on crop yield data: France as a case study," *Ecol. Indic.*, vol. 101, pp. 355-363, 2019.
- [11] N. Dorjay, D. P. Abrol y B. Vikram, "Effect of Bee Attractants on Foraging Activities of Honeybees *Apis mellifera*, *A. dorsata* and *A. cerana* on *Cucumis sativus* L. and *Morinda charantia* L. Flowers," *J. Apic.*, vol. 2, pp. 123-134, 2022.
- [12] S. Debnam, A. Saez, M. A. Aizen y R. M. Callaway, "Exotic insect pollinators and native pollination systems," *Plant Ecol.*, vol. 222, no. 9, pp. 1075-1088, 2021.
- [13] A. Das, S. Sau, M. K. Pandit y K. Saha, "A review on: Importance of pollinators in fruit and vegetable production and their collateral jeopardy from agro-chemicals," *J. Entomol. Zool. Stud.*, vol. 6, no. 4, pp. 1586-1591, 2018.
- [14] B. C. Lister and A. Garcia, "Climate-driven declines in arthropod abundance restructure a rainforest food web," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 115, no. 44, pp. E10397-E10406, 2018.
- [15] F. Sánchez-Bayo y K. A. G. Wyckhuys, "Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers," *Biol. Conserv.*, vol. 232, pp. 8-27, 2019.
- [16] G. G. Thimmegowda et al., "A field-based quantitative analysis of sublethal effects of air pollution on pollinators," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 117, no. 34, pp. 20653-20661, 2020.
- [17] N. Masui, E. Agathokleous, T. Mochizuki, A. Tani, H. Matsuuura y T. Koike, "Ozone disrupts the communication between plants and insects in urban and suburban areas: an updated insight on plant volatiles," *J. For. Res.*, vol. 32, pp. 1337-1349, 2021.
- [18] J. M. W. Ryalls et al., "Anthropogenic air pollutants reduce insect-mediated pollination services," *Environ. Pollut.*, vol. 297, pp. 118847, 2022.
- [19] V. Hernández-Villa, H. Vibrans, E. Uscanga-Mortera y A. Aguirre-Jaimes, "Floral visitors and pollinator dependence are re-



lated to floral display size and plant height in native weeds of central Mexico," *Flora*, vol. 262, p. 151505, 2020.

- [20] F. Baena-Díaz, E. Chévez y L. Porter-Bolland, "¿Qué sabemos de las abejas sin aguijón (*Hymenoptera: Apidae, Meliponini*) en México?: Diversidad, Ecología y polinización," *Acta zoológica Mex.*, pp. 1-17, 2023.
- [21] K. Dymond, J. L. Celis Diez, S. G. Potts, B. G. Howlett, B. K. Willcox y M. P. D. Garratt, "The role of insect pollinators in avocado production: A global review," *J. Appl. Entomol.*, vol. 145, no. 5, pp. 369-383, 2021.
- [22] A. Waniale et al., "Use of timelapse photography to determine flower opening time and pattern in banana (*Musa* spp.) for efficient hand pollination," *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, pp. 1-9, 2021.
- [23] A. Sajjad, W. Akram, W. Muhammad, M. Ahmad y A. Ahmad, "Pollination in Citrus," in *Citrus Production*, CRC Press, 2022, pp. 303-310.
- [24] A. Pardo and P. A. V Borges, "Worldwide importance of insect pollination in apple orchards: A review", *Agric. Ecosyst. Environ.*, vol. 293, pp. 106839, 2020.
- [25] A. Sabir and H. Kucukbasmaçi, "Agronomic response of 'Michele palieri' (*Vitis vinifera* L.) table grape to intraspecific diploid and interspecific tetraploid pollinizers," *Sci. Hortic. (Amsterdam)*, vol. 272, pp. 109589, 2020.
- [26] G. MacInnis and J. R. K. Forrest, "Pollination by wild bees yields larger strawberries than pollination by honey bees", *J. Appl. Ecol.*, vol. 56, no. 4, pp. 824-832, 2019.
- [27] M. Toledo-Hernández, T. Tschardtke, A. Tjoa, A. Anshary, B. Cyio y T. C. Wanger, "Landscape and farm-level management for conservation of potential pollinators in Indonesian cocoa agroforests", *Biol. Conserv.*, vol. 257, pp. 109106, 2021.
- [28] SADER, SEMARNAT, SENASICA, CONABIO y CONANP, "Diagnóstico. Situación actual de los polinizadores en México", CDMX, 2021.
- [29] W. M. Janousek et al., "Recent and future declines of a historically widespread pollinator linked to climate, land cover y pesticides", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 120, no. 5, 2023.
- [30] O. Martínez López, J. B. Koch, M. A. Martínez Morales, D. Navarrete Gutiérrez, E. Enríquez y R. Vandame, "Reduction in the potential distribution of bumble bees (*Apidae: Bombus*) in Mesoamerica





- under different climate change scenarios: Conservation implications", *Glob. Chang. Biol.*, vol. 27, no. 9, pp. 1772–1787, 2021.
- [31] K. Maebe et al., "Bumblebee resilience to climate change, through plastic and adaptive responses", *Glob. Chang. Biol.*, vol. 27, no. 18, pp. 4223–4237, 2021.
- [32] J. L. Villaseñor, "Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México", *Bot. Sci.*, vol. 96, no. 2, pp. 332–358, 2018.
- [33] D. de análisis estratégico SIAP, "Escenario mensual de productos agroalimentarios: Aguacate". https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/759460/Aguacate_Agosto_2022.pdf
- [34] A. Borrego y T. C. Allende, "Principales detonantes y efectos socioambientales del boom del aguacate en México," *J. Lat. Am. Geogr.*, vol. 20, no. 1, pp. 154–184, 2021.
- [35] SAGARPA, "Planeación agrícola nacional 2017–2030, Jitomate mexicano," CDMX, 2017.
- [36] D. Timerman and S. C. H. Barrett, "The biomechanics of pollen release: new perspectives on the evolution of wind pollination in angiosperms", *Biol. Rev.*, vol. 96, no. 5, pp. 2146–2163, 2021.
- [37] A. H. Ganie, Z. A. Reshi y B. A. Wafai, "Quantitative, Qualitative Pollen Characters and Pollination Mechanisms: A Case Study of Ten *Potamogeton* Species", *Inl. Water Biol.*, pp. 1–7, 2022.
- [38] G. Bugin et al., "Agriculture and Pollinating Insects, No Longer a Choice but a Need: EU Agriculture's Dependence on Pollinators in the 2007–2019 Period", *Sustainability*, vol. 14, no. 6, p. 3644, 2022.
- [39] M. Kapoor, P. Mawal, V. Sharma and R. C. Gupta, "Analysis of genetic diversity and population structure in *Asparagus* species using SSR markers", *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, vol. 18, no. 1, pp. 1–10, 2020.
- [40] A. Gaffney, B. Bohman, S. R. Quarrell, P. H. Brown and G. R. Allen, "Frequent Insect Visitors Are Not Always Pollen Carriers in Hybrid Carrot Pollination", *Insects*, vol. 9, no. 2, p. 61, 2018.
- [41] A. Dingley et al., "Precision Pollination Strategies for Advancing Horticultural Tomato Crop Production", *Agronomy*, vol. 12, no. 2, pp. 518, 2022.
- [42] K. Seki, "Detection of candidate gene *Lsacos5* and development of InDel marker for male sterility by ddRAD-seq and resequencing analysis in lettuce", *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–8, 2022.



- [43] S. Singh, J. Singh, P. K. Chhuneja y R. Singh, "Impact of *Apis mellifera* linnaeus in augmenting seed yield of broccoli, *Brassica oleracea* var. Italica Plenck," 2019.
- [44] S. D. Divija and P. D. Kamala Jayanthi, "Pollination efficiency and foraging behaviour of honey bees and flies to onion *Allium cepa* L.", *J. Apic. Res.*, vol. 61, no. 5, pp. 688-694, 2022.
- [45] J. Rosales-Ortiz, "Lidera Guanajuato en exportación de brócoli, coliflor y zanahoria," Mexicoport. <https://mexicoport.com/lidera-guanajuato-en-exportacion-de-brocoli-coliflor-y-zanahoria/>
- [46] E. Martínez-Borrego and J. L. Hernández-Pérez, "Integración comercial de los agricultores de la Zona Metropolitana de León, en Guanajuato", *Política y Cult. UAM*, vol. 52, pp. 9-37, 2019.
- [47] Implan, "Programa municipal de desarrollo urbano y de ordenamiento ecológico territorial de Irapuato," Irapuato, 2020.
- [48] PCEF, "Compendio de indicadores 2018". <https://www.agricultura.gob.mx/sites/default/files/sagarpa/document/2020/03/19/1894/19032020-guanajuato-pcef-compendio-2018.pdf>
- [49] TecnoAgro, "Producción de esparrago", TecnoAgro.com.mx. <https://tecnoagro.com.mx/no.-139/produccion-de-esparrago>
- [50] Gobierno del estado de Guanajuato, "Es Guanajuato principal productor de zanahoria del país", Boletines Guanajuato. <https://boletines.guanajuato.gob.mx/2022/07/13/es-guanajuato-principal-productor-de-zanahoria-del-pais/>
- [51] E. Agathokleous, Z. Feng y J. Penuelas, "Ozone pollution disrupts plant-pollinator systems," *Trends Ecol. Evol.*, vol. 37, no. 11, pp. 939-941, 2022, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2022.08.004>
- [52] M. Vanderplanck et al., "Ozone pollution alters olfaction and behavior of pollinators," *Antioxidants*, vol. 10, no. 5, p. 636, 2021.
- [53] P. A. Henríquez-Piskulich, C. Schapheer, N. J. Vereecken y C. Villagra, "Agroecological strategies to safeguard insect pollinators in biodiversity hotspots: Chile as a case study," *Sustainability*, vol. 13, no. 12, p. 6728, 2021.
- [54] R. Costanza et al., "The value of the world's ecosystem services and natural capital," *Nature*, vol. 387, no. 6630, pp. 253-260, 1997, DOI: 10.1038/387253a0.
- [55] R. Costanza et al., "Changes in the global value of ecosystem services," *Glob.*



- Environ. Chang.*, vol. 26, pp. 152–158, 2014, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2014.04.002>
- [56] M. Vardon et al., "From COVID-19 to Green Recovery with natural capital accounting," *Ambio*, vol. 52, no. 1, pp. 15–29, 2023, DOI: [10.1007/s13280-022-01757-5](https://doi.org/10.1007/s13280-022-01757-5)
- [57] P. Sutton, "If dollars rule the world, why don't the bees get a bailout?", *The conversation*. <https://theconversation.com/if-dollars-rule-the-world-why-dont-the-bees-get-a-bailout-38384>
- [58] D. M. Bauer, "Valuing pollination services: a comparison of approaches," in *Valuing Ecosystem Services*, Edward Elgar Publishing, 2014.
- [59] M. R. Berenbaum, "The Global Pollinator Situation and Potential Environmental Impacts (PowerPoint)", en *Agricultural Outlook Forum 2009*, 2009. <https://ideas.repec.org/p/ags/usao09/50608.html>
- [60] L. M. Galindo and S. Basurto, "Valoración monetaria del servicio de polinización en Mexico. *Informe del proyecto NCAVES*, Nueva York, 2021.
- [61] D. M. Bauer and I. Sue Wing, "The macroeconomic cost of catastrophic pollinator declines", *Ecol. Econ.*, vol. 126, pp. 1-13, 2016, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2016.01.011>
- [62] J. T. Murphy, T. D. Breeze, B. Willcox, S. Kavanagh y J. C. Stout, "Globalisation and pollinators: Pollinator declines are an economic threat to global food systems", *People Nat.*, vol. 4, no. 3, pp. 773-785, 2022, DOI: <https://doi.org/10.1002/pan3.10314>
- [63] SEMARNAT, "Programa de la calidad del aire_Salamanca-Celaya_Irapuato," Gob. mx. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/796834/7_ProAire_Salamanca-Celaya_Irapuato.pdf
- [64] SMAOT, "Informe de estado y tendencia de la calidad del aire 2019". [Smaot.guanajuato.gob.mx. https://smaot.guanajuato.gob.mx/sitio/calidad-del-aire/1/Sistema-de-Monitoreo-de-la-calidad-del-Aire-del-Estado-de-Guanajuato-\(SIMEG\)](https://smaot.guanajuato.gob.mx/sitio/calidad-del-aire/1/Sistema-de-Monitoreo-de-la-calidad-del-Aire-del-Estado-de-Guanajuato-(SIMEG))
- [65] SMAOT, "Informe Ambiental del Estado de Guanajuato 2020" [Portalsocial.guanajuato.gob.mx. https://portalsocial.guanajuato.gob.mx/sites/default/files/documentos/2021_SMAOT_Informe_ambiental_estado_guanajuato_2020_20210324.pdf](https://portalsocial.guanajuato.gob.mx/sites/default/files/documentos/2021_SMAOT_Informe_ambiental_estado_guanajuato_2020_20210324.pdf)
- [66] L. Galetto et al., "Risks and opportunities associated with pollinators' conservation and management of pollination services in Latin America".



Ecología Austral, 2022. DOI:
10.25260/EA.22.32.1.0.1790

- [67] M. Proffit *et al.*, "Chemical signal is in the blend: bases of plant-pollinator encounter in a highly specialized interaction", *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 10071, 2020.
- [68] M. Gérard, M. Vanderplanck, T. Wood y D. Michez, "Global warming and plant-pollinator mismatches", *Emerg. Top. life Sci.*, vol. 4, no. 1, pp. 77–86, 2020.
- [69] J. D. Blande, "Effects of air pollution on plant-insect interactions mediated by olfactory and visual cues", *Curr. Opin. Environ. Sci. Heal.*, vol. 19, p. 100228, 2021.
- [70] J. D. Fuentes *et al.*, "Biogenic hydrocarbons in the atmospheric boundary layer: a review", *Bull. Am. Meteorol. Soc.*, vol. 81, no. 7, pp. 1537–1576, 2000.
- [71] Q. S. McFrederick, J. D. Fuentes, J. C. Kathilankal y M. Lerdau, "Effects of air pollution on biogenic volatiles and ecological interactions", *Oecologia*, vol. 160, no. 3, pp. 411–420, 2009.
- [72] N. Carslaw, "Indoor Gas-Phase Chemistry," in *Handbook of Indoor Air Quality*, Springer, 2021, pp. 1-18.
- [73] S. Shrestha *et al.*, "Traffic, transport y vegetation drive VOC concentrations in a major urban area in Texas," *Sci. Total Environ.*, vol. 838, p. 155861, 2022.
- [74] T. Berndt, "Peroxy radical processes and product formation in the OH radical-initiated oxidation of α -pinene for near-atmospheric conditions," *J. Phys. Chem. A*, vol. 125, no. 41, pp. 9151-9160, 2021.
- [75] H. Li *et al.*, "Atmospheric organic vapors in two European pine forests measured by a Vocus PTR-TOF: insights into monoterpene and sesquiterpene oxidation processes," *Atmos. Chem. Phys.*, vol. 21, no. 5, pp. 4123–4147, 2021.



EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL POTENCIAL ANTIHIPERTENSIVO DE HIDROLIZADOS DE ALBÚMINA Y GLOBULINA DEL GRANO DE CACAO (*THEOBROMA CACAO* L. VAR. FORASTERO)

IN VITRO EVALUATION OF THE ANTI-HYPERTENSIVE POTENTIAL OF ALBUMIN AND GLOBULIN HYDROLYSATES FROM COCOA BEAN (*THEOBROMA CACAO* L. VAR. FORASTERO)

Eugenia Lugo Cervantes¹
Erik Gustavo Tovar Pérez²

¹Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, México.

²Universidad Autónoma de Querétaro, México.

*egtovarpe@conacyt.mx

Resumen

De acuerdo con informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la hipertensión se considera el factor de riesgo cardiovascular de mayor frecuencia, pues afecta del 25 al 30 % de la población mundial. Uno de los principales agentes causantes es la enzima convertidora de angiotensina-I (ECA), la cual desempeña un papel fundamental en la regulación de la presión arterial mediante la modulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona. Debido a lo anterior, existen numerosos fármacos con capacidad de inhibición de la ECA; sin embargo, pueden ocasionar efectos secundarios adversos, como tos, dolor de cabeza, erupciones en la piel, alteración del gusto, angioedema, náuseas y reacciones alérgicas. Por esta razón, hay un creciente interés en la obtención de inhibidores de la ECA de fuentes naturales que permitan disminuir los efectos secundarios y la dependencia de los fármacos. Particularmente, los péptidos bioactivos presentes en hidrolizados enzimáticos de proteína han mostrado propiedades antihipertensivas debido a que inhiben la ECA, por lo que se consideran una alternativa prometedora en la prevención y tratamiento de la hipertensión. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad inhibidora in vitro de la ECA de los hidrolizados enzimáticos obtenidos de proteínas (albúmina y globulina) del grano de cacao; el propósito es demostrar su potencial como fuente natural de agentes antihipertensivos. Como resultado del tratamiento con alcalasa de albúmina y globulina del grano de cacao se obtuvieron hidrolizados con actividad inhibidora de la ECA. Particularmente, a partir de la globulina se generaron hidrolizados y fracciones de péptidos (< 3000 Da) eficaces en la inhibición de la ECA, por lo que podrían considerarse ingredientes bio-funcionales para el desarrollo de alimentos nutracéuticos.

Palabras clave: actividad antihipertensiva, grano de cacao, hidrólisis enzimática, péptidos bioactivos, proteínas.

Abstract

According to reports from the World Health Organization (WHO), hypertension is considered the most common cardiovascular risk factor, affecting 25 to 30% of the world's population. One of the main causative agents is angiotensin-I converting enzyme (ACE), which plays a fundamental role in the regulation of blood pressure by modulating the renin-angiotensin-aldosterone system. Due to the above, there are numerous drugs with ACE inhibitory capacity; however, they can cause adverse side effects, such as cough, headache, skin rash, taste alteration, angioedema, nausea and allergic reactions. For this reason, there is a growing interest in obtaining ACE inhibitors from natural sources to reduce side effects and drug dependence. Particularly, bioactive peptides present in enzymatic protein hydrolysates have shown antihypertensive properties because they inhibit ACE, and are therefore considered a promising alternative in the prevention and treatment of hypertension. The aim of this work was to evaluate the *in vitro* ACE inhibitory activity of enzymatic hydrolysates obtained from cocoa bean proteins (albumin and globulin); the purpose is to demonstrate their potential as a natural source of antihypertensive agents. As a result of alkalase treatment of albumin and globulin from cocoa beans, hydrolysates with ACE inhibitory activity were obtained. Particularly, hydrolysates and peptide fractions (< 3000 Da) effective in ACE inhibition were generated from globulin, so they could be considered bio-functional ingredients for the development of nutraceutical foods.

Keywords: Antihypertensive activity, cocoa bean, enzymatic hydrolysis, bioactive peptides, proteins.

Introducción

La hipertensión (presión arterial sistólica y diastólica de 140/90 mmHg y/o superiores) afecta aproximadamente al 25–30 % de la población mundial y se considera una enfermedad crónica; se la relaciona con enfermedades cardiovasculares (infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca, accidente cerebrovascular, enfermedad coronaria, arteriosclerosis, entre otras) y afecciones como la insuficiencia renal) [1].



La hipertensión se considera el factor de riesgo cardiovascular más común afectando del 25 al 30 % de la población. Uno de los principales causantes, es la enzima convertidora de angiotensina-I (ECA). Sin embargo, es posible encontrar una amplia disponibilidad de fármacos con capacidad de inhibición de la ECA.

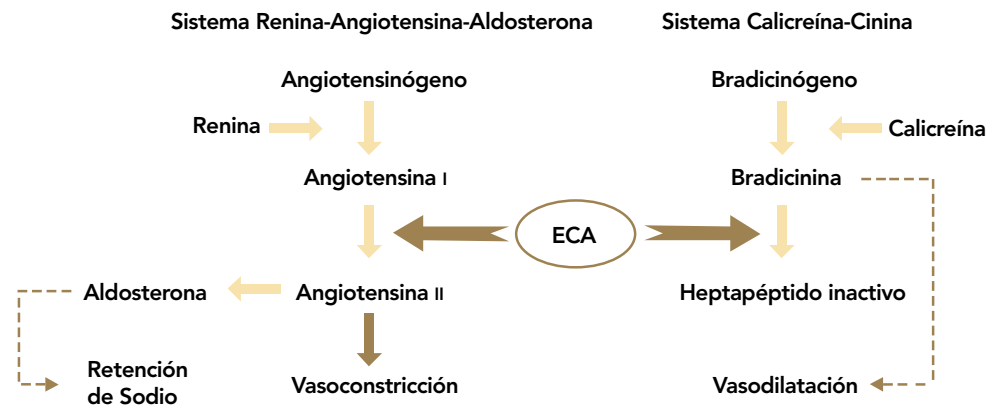
La enzima convertidora de angiotensina-I (ECA) es una dipeptidil carboxipeptidasa I (EC 3.4.15.1) que forma parte del sistema renina-angiotensina-aldosterona, donde cataliza la formación de angiotensina II, un potente vasoconstrictor. También se estimula la secreción de aldosterona y se induce

la expresión de potasio y la retención de sodio y agua, incrementando el volumen extracelular y neutralizando la expresión de renina [1]. Además, la ECA actúa de manera simultánea en el sistema calicreína-cinina, catalizando la degradación de bradiginina, hormona peptídica de potente acción vasodilatadora [2], [3]. A causa de los procesos anteriores, la ECA favorece el aumento de la presión arterial (Figura 1); por tanto, existe una amplia disponibilidad de fármacos que la inhiben, entre los cuales se encuentran el captopril, enalapril, lisinopril y perindopril. Sin embargo, estos medicamentos pueden ocasionar efectos secundarios adversos, como tos, dolor de cabeza, sarpullido, alteración del gusto, angioedema, náuseas y alergias [4].

En las últimas dos décadas, se han atribuido beneficios en la salud (antioxidante, antihipertensivo, hipocolesterolémico, antitrombótico, entre otros) a fragmentos proteínicos específicos con capacidad moduladora de procesos fisiológicos, llamados péptidos bioactivos (PB) [5]. Particularmente, el efecto antihipertensivo de los PB se debe a que inhiben la actividad de la ECA; su mecanismo de acción es similar al de los fármacos, ya que son capaces de unirse al sitio activo de la ECA (inhibición competitiva). Sin embargo, hay excepciones, ya que algunos péptidos se unen a la ECA en sitios diferentes al activo (inhibición no competitiva) o combinarse con el complejo enzima-sustrato (inhibición acompetitiva), impidiendo que se lleve a cabo la reacción [2].



FIGURA 1. Modelo de regulación de la presión arterial mediante la enzima convertidora de angiotensina I (ECA) en el Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona y Sistema Caliceína-Cinina.



Dado que los PB se encuentran “inactivos” cuando forman parte de las proteínas, es necesario que se promueva su liberación. Por fortuna, los procesos biotecnológicos actuales gozan de un mayor potencial industrial y comercial para la síntesis de hidrolizados a partir de fuentes alimentarias de origen vegetal [4]. En este contexto, la hidrólisis enzimática de proteínas es el bioproceso preferido para la generación de péptidos: es fácil de controlar, no forma subproductos y permite aprovechar una gran variedad de enzimas proteolíticas de origen animal, vegetal y microbiano [5].

En el caso particular de las especies vegetales, las proteínas se obtienen principalmente de cereales, pseudocereales, leguminosas y oleaginosas [4]. No obstante, en los últimos años ha crecido el interés por nuevas fuentes con potencial terapéutico en beneficio de la salud. En este sentido destaca el grano de cacao, obtenido de la semilla fermentada y secada de los frutos del árbol tropical *Theobroma cacao* L. (familia *Sterculiaceae*). En América Central, Sudamérica, África Central y Asia se cultivan las subespecies criollo, forastero y trinitario [6], y en las tres el componente principal del grano de cacao es la grasa (47-55 %). Dicha materia se explota ampliamente en la industria de fabricación de chocolate, productos farmacéuticos y cosméticos [7]. Asimismo, el segundo componente por abundancia es la proteína (10-15 %), la cual se constituye por cuatro fracciones: albúmina, globulina, prolamina y glutelina [8].

Actualmente, la variedad forastero representa aproximadamente el 70 % de la producción mundial del cacao y se cultiva en los estados de Chiapas y Tabasco [9]; se caracteriza por su resistencia a enfermedades, baja demanda de nutrientes y alto rendimiento de frutos, a diferencia de la variedad criollo.



Los efectos bio-funcionales del cacao están relacionados con los compuestos fenólicos, aunque en años recientes las proteínas y los péptidos derivados de las mismas han cobrado importancia. Debido a sus propiedades antioxidantes [8], antitumorales [9], antiadipogénicas [10] y antihipertensivas [11], son aprovechables en la prevención de enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes, cáncer, obesidad e hipertensión.



Hasta la fecha, la actividad antihipertensiva del cacao se ha determinado específicamente en la variedad criollo (que debido a sus características organolépticas se destina principalmente a la elaboración de chocolates de alta calidad) [11]. Por lo anterior, este trabajo pretende evaluar in vitro la albúmina y globulina obtenidas del cacao forastero, sus hidrolizados enzimáticos y fracciones de péptidos en términos de la capacidad para inhibir la ECA. La finalidad es validar este recurso como una fuente natural de agentes peptídicos antihipertensivos.

Metodología / Materiales y Métodos

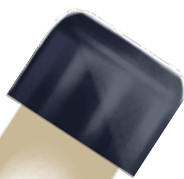
Material vegetal



Vainas de cacao (*Theobroma cacao* L., variedad forastero) cosechadas en mayo de 2017 por métodos tradicionales en plantaciones en el municipio de Comalcalco, Estado de Tabasco, México. Las semillas frescas se fermentaron a temperatura ambiente en cajas de madera (100 cm³) durante 6 días, se lavaron con agua para eliminar los restos de mucílago y se secaron a 40 °C durante 8 horas. Posteriormente, los granos de cacao se descascarillaron a mano y se trituraron con un mortero de pistilo.

Desgrasado de grano de cacao

De 3-4 kg de granos triturados se desgrasaron por el método de Soxhlet durante 24 horas con éter de petróleo (7 ml/g) como solvente. Posteriormente, se colocaron en una campana de extracción durante 24 horas para permitir la evaporación del solvente. Finalmente, se almacenaron en refrigeración a 4 °C.





Preparación del extracto seco acetónico

Los alcaloides se extrajeron parcialmente con cloroformo (2.5 ml/g) durante 8 horas en un aparato Soxhlet y posteriormente los granos triturados se colocaron en una campana de extracción durante 24 horas para permitir la evaporación del solvente. A continuación, para eliminar los polifenoles se siguió el método descrito por [12] con algunas modificaciones de [13]. A partir de los granos triturados, los polifenoles se extrajeron tres veces con acetona al 80 % (v/v) (que contiene ascorbato de sodio 5 mM) y posteriormente cinco veces con acetona al 70 % (v/v). Las suspensiones (20 ml/g) se agitaron durante 1 hora a 4 °C y se centrifugaron a 13 000 rpm durante 15 minutos a 4 °C. Después del paso final de extracción, se comprobó la eficiencia mediante una prueba con ácido clorhídrico 5 M (un color rojo indica la presencia de polifenoles residuales) [13]. Tras la extracción completa de polifenoles, el agua residual se eliminó mediante extracción con acetona al 100 % y el extracto obtenido se evaporó a sequedad. Finalmente, el extracto seco acetónico (ACDP, por sus siglas en inglés) se molió con un molino IKA (IKA®A11 basic), se tamizó a través de una malla de 150 µm (tamiz no. 100) y se almacenó a 4 °C.

Extracción de proteínas

La extracción de las proteínas se realizó siguiendo el método de [13] con algunas modificaciones. A partir del ACDP, las fracciones de albúmina (*Alb*) y globulina (*Glob*), se extrajeron sucesivamente con Tris-HCl 10 mM, pH 7.5 (que contiene EDTA 2 mM) y cloruro de sodio 0.5 M (que contiene EDTA 2 mM y Tris-HCl 10 mM, pH 7.5), respectivamente. Las suspensiones (1:10 p:v) se agitaron durante 4 horas a 4 °C y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 20 minutos a 4 °C. Cada sobrenadante se dializó en membranas (peso molecular de corte de 14 kDa) con agua desionizada durante 48 horas a 4 °C, con un cambio de agua cada 24 horas. El contenido de los tubos de diálisis se centrifugó en las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Los sobrenadantes obtenidos corresponden a cada una de las fracciones de proteína (*Alb* y *Glob*), las cuales se liofilizaron y almacenaron a -20 °C.

La concentración de proteína soluble en cada una de las fracciones se determinó espectrofotométricamente por el método de Bradford [14], previa elaboración de una curva patrón de albúmina de suero bovino (0-1 mg/ml).



El rendimiento de extracción se expresó en miligramos de proteína por gramo de ACDP.

Preparación de hidrolizados de proteína

La hidrólisis enzimática *in vitro* de las fracciones de proteína (*Alb* y *Glob*) se realizó siguiendo el procedimiento de [8] y utilizando alcalasa (EC 3.4.21.62, proteasa de *Bacillus licheniformis*, actividad específica 2.4 U/g proteína, Sigma-Aldrich®) a una relación enzima:sustrato (E:S) de 1:10 (p:p), pH 7.5 y 50 °C. La hidrólisis se llevó a cabo durante 2, 6 y 8 horas (tiempo de hidrólisis establecido en un estudio previo para la obtención de hidrolizados antioxidantes de glutelinas de la variedad forastero) [8]. Al final de cada tiempo, la muestra se calentó a 90 °C durante 10 minutos para inactivar la enzima alcalasa. Todas las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos a 4 °C. Los sobrenadantes, denominados hidrolizados de albúmina (H-*Alb*) y globulina (H-*Glob*), se almacenaron a -20 °C.

Grado de hidrólisis

El grado de hidrólisis (GH) se determinó espectrofotométricamente por el método de [15] mediante la cuantificación de grupos amino libres que reaccionan con ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico (TNBS por sus siglas en inglés), previa elaboración de una curva patrón de L-Leucina (0 – 2.5 mM). Los valores de GH se calcularon utilizando la siguiente ecuación:

$$GH (\%) = \left[\frac{(L_t - L_0)}{(L_{max} - L_0)} \right] \times 100$$

Donde L_t es la cantidad de grupos amino liberados tras la hidrólisis enzimática; L_0 es la cantidad de grupos amino libres en las fracciones de proteína extraídas (*Alb* o *Glob*) y L_{max} es la cantidad total de grupos amino liberados tras la hidrólisis total (con HCl 6 N, 24 horas) de las fracciones de proteína (*Alb* o *Glob*).

Ultrafiltración

Para la separación de péptidos en los hidrolizados enzimáticos (H-*Alb* y H-*Glob*) que presentaron el mayor GH, se utilizó una membrana de ultrafil-





tración con un tamaño de corte de peso molecular (PM) de 3000 Da (Millipore, Bedford, MA, USA), centrifugando a 5000 rpm durante 30 minutos. Para cada hidrolizado enzimático de *Alb* y *Glob* se obtuvieron fracciones de péptidos con PM menores a 3000 Da, los cuales se denominaron *UF-Alb* y *UF-Glob*, respectivamente. El contenido de péptidos solubles se determinó espectrofotométricamente por el método de *TNBS* [15] descrito anteriormente.

Ensayo de la actividad inhibidora de la ECA

La actividad inhibidora de la *ECA* se determinó espectrofotométricamente de acuerdo al método de [16] utilizando hipuril-L-histidil-L-leucina (*HHL*) como sustrato. El ensayo se llevó a cabo añadiendo 150 μL de búfer de borato 0.2 M (pH 8.3) y 100 μL de NaCl 300 μM . Posteriormente, se agregó una alícuota (50 μL) de muestra (proteína, hidrolizado enzimático o ultrafiltrado) o de búfer de fosfatos de potasio 40 μM , pH 8.3 (control), se mezcló con 50 μL de *ECA* (165 mU) y se incubó a 37°C por 5 minutos. Enseguida se añadieron 100 μL de *HHL* 20mM (a 37°C) y se continuó la incubación durante 30 minutos. La reacción se detuvo por inmersión de los tubos en baño de agua caliente (80 – 90 °C) durante 10 minutos, posteriormente se añadió 1 mL de búfer de fosfatos de potasio 0.2 M, pH 8.3 y 1.5 mL de 2,4,6 tricloro-s-triazina (3% p/v en dioxano). La mezcla se agitó en vortex (hasta que se mostró transparente) y se centrifugó a 1000 rpm por 5 minutos. Finalmente, en el sobrenadante se realizó la medición de la absorbancia a 382 nm, previa elaboración de una curva patrón de ácido hipúrico (0 – 50 μg).

Una unidad (U) de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima (*ECA*) que hidroliza 1 μmol de *HHL* formando ácido hipúrico y liberando L-histidil-L-leucina en 1 minuto a 37°C.

Análisis estadístico

Los resultados se muestran como medias \pm desviaciones estándar. Las diferencias significativas de los resultados se determinaron mediante análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($P < 0.05$) utilizando el software Statgraphics Centurion *xvi*.



Resultados y discusión

Con la finalidad de evitar una desnaturalización irreversible de las proteínas del grano de cacao por oxidación de polifenoles durante el proceso de extracción, en este trabajo se obtuvo el extracto seco acetónico (AcDP). Asimismo, mediante una prueba cualitativa (utilizando HCl), se comprobó que el AcDP se encontraba libre de polifenoles, por lo que el proceso de extracción con acetona fue eficiente; es decir, la materia prima obtenida fue adecuada para llevar a cabo la extracción de las proteínas. De esta manera, se obtuvieron las fracciones de albúmina (*Alb*) y globulina (*Glob*) en las concentraciones que se muestran en la Tabla 1. El contenido total de proteína fue de 11.56 ± 0.61 mg/g AcDP, donde la fracción de *Alb* representó el 55.6 % y la fracción de *Glob* el 44.4 % del total de proteína.

TABLA 1. Contenido de albúmina (*Alb*) y globulina (*Glob*) extraídas del grano de cacao.

PROTEÍNA	PROPORCIÓN DE PROTEÍNA	
	(MG/G ACDP)	(%)*
ALBÚMINA (ALB)	6.43 ± 0.35	55.6 ± 1.2
GLOBULINA (GLOB)	5.13 ± 0.32	44.4 ± 1.2
RELACIÓN ALB/GLOB	1.25 ± 0.06	

(*) Representa el % de la proteína total extraída.

El rendimiento de extracción de *Alb* y *Glob* concuerda con lo reportado previamente por [8], sin embargo resultó significativamente menor a lo mencionado por [13]. Diversos estudios realizados en grano de cacao han reportado distintos contenido y distribución porcentual de las fracciones *Alb* y *Glob*. Estas diferencias se han atribuido a diversos factores como la variedad del cacao, método de extracción y fraccionamiento utilizado, tamaño de lote, uso de agentes reductores, aplicación de pretratamientos, condiciones de fermentación y almacenamiento del grano [17]. En este sentido, se ha demostrado que durante el proceso de fermentación ocurre una degradación de las fracciones de *Alb* y *Glob* relacionada con la formación de compuestos precursores del aroma característico del cacao [13], [18].

Los hidrolizados de proteína se pueden producir principalmente por hidrólisis química, enzimática o fermentación. El método de hidrólisis enzimáti-





ca presenta varias ventajas como condiciones moderadas de temperatura y pH durante el proceso, facilidad para controlar la reacción, no hay formación de subproductos, se conserva el valor nutritivo y se dispone de una gran variedad de enzimas proteolíticas (de origen vegetal, animal y microbiano) [19]. Particularmente, en este trabajo, la hidrólisis de *Alb* y *Glob* se llevó a cabo con la enzima alcalasa, la cual es utilizada ampliamente para la producción de hidrolizados de proteína y PB, ya que es una proteasa de origen microbiano (de bajo costo) que presenta amplia especificidad.

El grado de hidrólisis (GH) se utiliza como un parámetro para el seguimiento de la proteólisis enzimática y es el indicador más empleado para la comparación entre hidrolizados enzimáticos de proteína. En la Figura 2 se muestran los valores obtenidos de GH para las combinaciones de tiempo y relación E:S ensayadas para la hidrólisis de *Alb* y *Glob* con alcalasa. Los valores de GH se encontraron entre 8.3-11.7 % y 12.9-19.8 % para *Alb* y *Glob*, respectivamente. Los porcentajes superiores en *Alb* podrían deberse a que esta fracción se considera una proteína constitutiva; por otro lado, la *Glob* es una proteína de almacenamiento, menos accesible a la acción de la alcalasa. Además, la fracción de *Glob* se compone principalmente por unidades de mayor PM que las contenidas en la fracción de *Alb* [11], [13].

Como se mencionó anteriormente, el GH es una propiedad fundamental que puede determinar en gran medida el posible uso de los hidrolizados de proteína. Con respecto a este parámetro, los hidrolizados con GH superior al 10 % se aprovechan principalmente en la formulación de suplementos alimenticios, liberación de PB y como fuente de nitrógeno en dietas de individuos que presentan alergenicidad o errores metabólicos específicos [20]. En el presente estudio, 4 de 6 hidrolizados mostraron un GH mayor al 10 %, por lo que los hidrolizados de *Alb* y *Glob* podrían ser utilizados para estos propósitos. Adicionalmente, debido a que los PB se consideran como secuencias de cadena corta (2 a 20 aminoácidos) con PM de 250-3000 Da, la separación de péptidos en los hidrolizados de *Alb* y *Glob* se llevó a cabo por ultrafiltración con membranas, ya que es un proceso adecuado para el fraccionamiento de cadenas peptídicas con un rango de PM específico.



FIGURA 2. Grado de hidrólisis (%) obtenido en los hidrolizados de albúmina (H-*Alb*) y globulina (H-*Glob*) a diferente tiempo de hidrólisis con alcalasa. Los resultados se representan como media \pm desviación estándar (n = 3). Letras distintas indican diferencia significativa (P < 0.05).

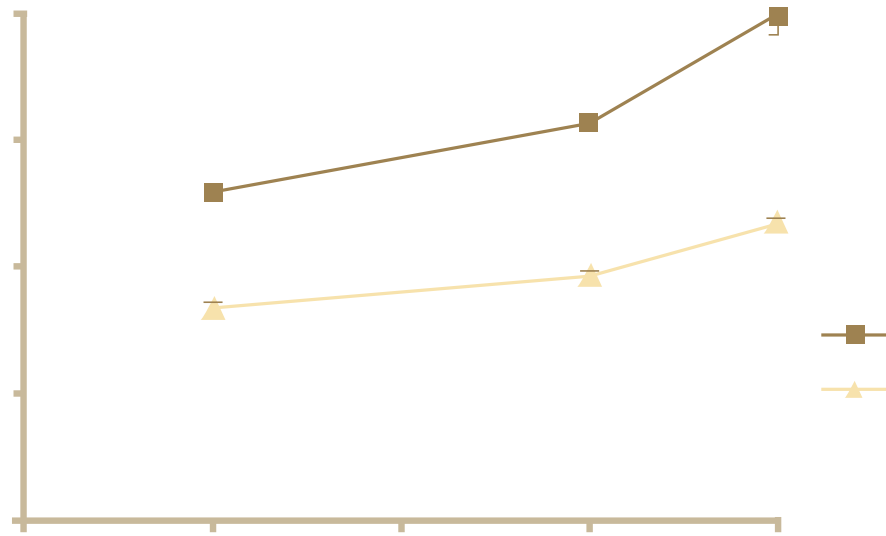
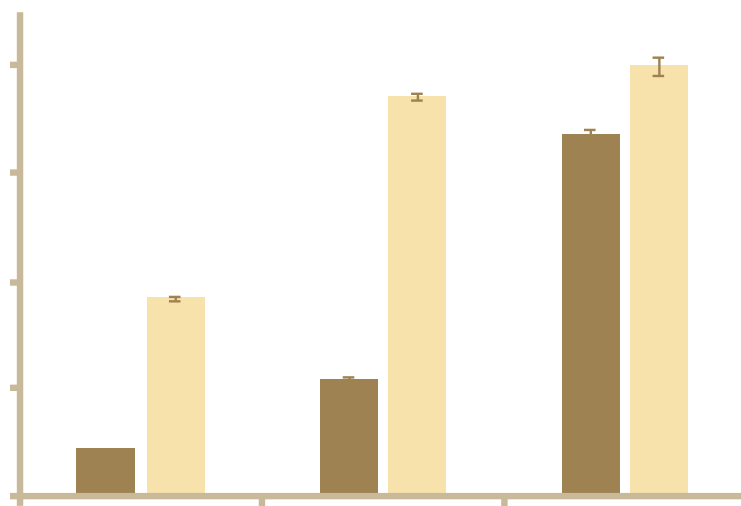


FIGURA 3. Inhibición de la ECA (%) de albúmina (*Alb*) y globulina (*Glob*), hidrolizados enzimáticos y fracciones de péptidos < 3000 Da (ultrafiltrados). La concentración final de las muestras en los ensayos fue de 100 μ g/mL. Los resultados se representan como media \pm desviación estándar (n = 3). Letras distintas indican diferencia significativa (P < 0.05).



La actividad antihipertensiva (*in vitro*) de *Alb* y *Glob*, hidrolizados enzimáticos y ultrafiltrados obtenidos del cacao se evaluó mediante la inhibición de la ECA (Figura 3). Inicialmente, ambas fracciones proteínicas (sin hidrolizar) presentaron actividad inhibidora de la ECA, mostrando valores de 4.4 % y 18.3 % para *Alb* y *Glob*, respectivamente. Así mismo, la hidrólisis de *Alb* y *Glob* con alcalasa, como la separación por ultrafiltración de fracciones de péptidos, resultó en un incremento de la inhibición de la ECA. Las tasas más altas de inhibición de la ECA fueron de 36.9 % y 39.8 % obtenidas en los hidrolizados y ultrafiltrados de *Glob*.

De igual manera, se observó que las muestras (proteína, hidrolizado y ultrafiltrado) provenientes de *Glob* tienen mayor capacidad de inhibición



de la *ECA* con respecto a las muestras provenientes de *Alb*. Estos resultados indican que la *Glob* representa una fuente más propicia de péptidos inhibidores de la *ECA*. En este sentido, los hidrolizados de *Alb* y *Glob* pueden estar compuestos de péptidos que presentan en su estructura aminoácidos hidrofóbicos (aromáticos o ramificados) e hidrofílicos, ya que la alcalasa hidroliza enlaces peptídicos con una amplia especificidad. Sin embargo, los péptidos con mayor actividad inhibidora de la *ECA* contienen principalmente aminoácidos hidrofóbicos en su C-terminal [21], [22]. Por lo anterior, la mayor actividad inhibidora de la *ECA* mostrada por la *Glob* (y sus hidrolizados o ultrafiltrados) puede deberse a una mayor presencia de aminoácidos hidrofóbicos (principalmente alanina, leucina, isoleucina, prolina y valina) en comparación con la fracción de *Alb* [23], [24].

Diversos trabajos han reportado que la actividad antihipertensiva *in vitro* se debe a la liberación de péptidos con *PM* entre 1500 y 3000 Da, ya que estos son capaces de unirse al sitio activo de la *ECA* (inhibición competitiva) [21], [22]. Por otro lado, estudios de acoplamiento molecular han demostrado que moléculas peptídicas de alto *PM* son incompatibles con el sitio activo de la *ECA*, por lo que su mecanismo se debe a que interactúan con la *ECA* en sitios diferentes al sitio activo y logran acoplarse al complejo enzima-sustrato (inhibición no competitiva y/o acompetitiva) [2], [22]. Por lo anterior, en este trabajo las fracciones de péptidos ultrafiltradas (*PM* < 3000 Da) mostraron mayor inhibición de la *ECA* que las proteínas e hidrolizados enzimáticos.

Los porcentajes de inhibición de la *ECA* que se obtuvieron en los hidrolizados de *Alb* y *Glob* se encuentran en el rango reportado (10-60 %) para hidrolizados enzimáticos de otras fuentes vegetales como cereales [25], pseudocereales [16] y leguminosas [26]. Cabe mencionar que el objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial antihipertensivo de hidrolizados enzimáticos y de fracciones de péptidos parcialmente purificados (en base a su *PM*) mediante el proceso de *UF*, más no la caracterización ni purificación de los péptidos, ya que desde el punto de vista de producción y comercialización, un hidrolizado sería un producto más factible y rentable de aplicar a nivel industrial.

De tal manera, los resultados de este trabajo pueden servir como base en la realización de futuros estudios del potencial antihipertensivo de estos compuestos. En este sentido, posteriormente sería necesario optimizar el proceso de producción de los hidrolizados, así como efectuar estudios utilizando métodos *in vivo* y determinar el valor *IC50* (concentración de pép-



tido que se requiere para inhibir el 50% de la actividad de la ECA [20]. Por otro lado, si lo que interesa es la aplicación en la industria farmacéutica, también sería necesario llevar a cabo una purificación más extensa y la secuenciación de las cadenas peptídicas.

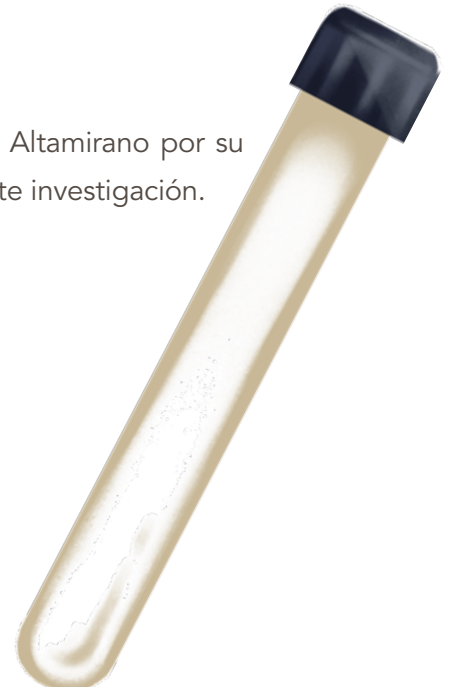
Conclusiones

Hasta el momento, y según nuestras investigaciones, este es el primer estudio que realiza la producción de hidrolizados enzimáticos de albúmina y globulina del grano de cacao variedad forastero con actividad inhibidora de la ECA. La obtención de los hidrolizados proporciona valor agregado al cultivo de cacao de la variedad forastero mediante el aprovechamiento de sus proteínas (específicamente albúmina y globulina). Debido a que los hidrolizados de proteína poseen la denominación de sustancia generalmente reconocida como segura (GRAS, por sus siglas en inglés) por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), los hidrolizados de proteína (principalmente de globulina) del grano de cacao con propiedades antihipertensivas *in vitro* representarían una alternativa para prevenir la hipertensión arterial.

El presente trabajo puede ser utilizado como referencia para futuras investigaciones enfocadas en la caracterización y secuenciación de los péptidos presentes en los hidrolizados, así como en la elucidación de los mecanismos de acción sobre la ECA y la optimización del proceso de hidrólisis enzimática. Adicionalmente, se requieren estudios *in vivo* con ratas espontáneamente hipertensas (SHR, por sus siglas en inglés) y estudios clínicos para determinar la estabilidad de la actividad biológica de estos compuestos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la I.B. Blanca Cristóbal Altamirano por su apoyo técnico durante la realización de la presente investigación.





Referencias

- [1] I.U. Okagu, T.P.C. Ezeorba, E.C. Aham, R.N. Aguchem, and R.N. Nechi, "Recent findings on the cellular and molecular mechanisms of action of novel food-derived antihypertensive peptides," *Food chemistry: molecular sciences*, vol. 4, p. 100078, 2022.
- [2] N. Shobako, "Hypotensive peptides derived from plant proteins," *Peptides*, vol. 142, p. 170573, 2021.
- [3] A.V. Quiroga, P. Aphalo, A.E. Nardo, and M.C. Añón, "In Vitro Modulation of Renin–Angiotensin System Enzymes by Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) Protein-Derived Peptides: Alternative Mechanisms Different from ACE Inhibition," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 65, pp. 7415-7423, 2017.
- [4] M. Manzoor, J. Singh, and A. Gani, "Exploration of bioactive peptides from various origin as promising nutraceutical treasures: *In vitro*, *in silico* and *in vivo* studies," *Food Chemistry*, vol. 373, p. 131395, 2022.
- [5] A. Dullius, M.I. Goettert, and C.F. Volken de Souza, "Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods – biotechnological facilitation of industrial scale-up," *Journal of Functional Foods*, vol. 42, pp. 58-74, 2018.
- [6] A. Bertazzo, S. Comai, I. Brunato, M. Zancato, and C.V.L. Costa, "The content of protein and non-protein (free and protein-bound) tryptophan in *Theobroma cacao* beans," *Food Chemistry*, vol. 124, pp. 93-96, 2011.
- [7] M. Rusconi, and A. Conti, "*Theobroma cacao* L. the food of the gods: a scientific approach beyond myths and claims," *Pharmacological Research*, vol. 61, no. 1, pp. 5-13, 2010.
- [8] E.G. Tovar-Pérez, L. Guerrero-Becerra, and E. Lugo-Cervantes, "Antioxidant activity of hydrolysates and peptide fractions of glutelin from cocoa (*Theobroma cacao* L.) seed," *CyTA - Journal of Food*, vol. 15, no. 4, pp. 489-496, 2017.
- [9] A.M. Preza, M.E. Jaramillo, A.M. Puebla, J.C. Mateos, R. Hernández, and E. Lugo, "Antitumor activity against murine lymphoma L5178Y model of proteins from cacao (*Theobroma cacao* L.) seeds in relation with *in vitro* antioxidant activity," *BMC-Complementary and Alternative Medicine*, vol. 10, no. 61, pp. 1-12, 2010.





- [10] L.J. Coronado-Cáceres, G. Rabadán-Chavez, L. Quevedo-Corona, B. Hernández-Ledesma, A. Miliar-García, L. Mojica, and E. Lugo-Cervantes, "Anti-obesity effect of cocoa proteins (*Theobroma cacao* L.) variety "Criollo" and the expression of genes related to the dysfunction of white adipose tissue in high-fat diet-induced obese rats," *Journal of Functional Foods*, vol. 62, p. 103519, 2019.
- [11] L.J. Coronado-Cáceres, B. Hernández-Ledesma, L. Mojica, L. Quevedo-Corona, G. Rabadán-Chavez, G.A. Castillo-Herrera, and E. Lugo-Cervantes, "Cocoa (*Theobroma cacao* L.) seed-derived peptides reduce blood pressure by interacting with the catalytic site of the angiotensin-converting enzyme," *Foods*, vol. 10, no. 10, p. 2340, 2021.
- [12] P.M. Kirchoff, B. Biehl, and G. Crone, G, "Peculiarity of the accumulation of free amino acids during cocoa fermentation," *Food Chemistry*, vol. 31, no. 4, pp. 295-311, 1989.
- [13] J. Voigt, B. Biehl and S. K. Syed Wazir, "The major seed proteins of *Theobroma cacao* L.," *Food Chemistry*, vol. 47, no. 2, pp. 145-151, 1993.
- [14] M.M. Bradford, "A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding," *Analytical Biochemistry*, vol. 72, pp. 248-254, 1976.
- [15] J. Adler-Nissen, "Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 27, no. 6, pp. 1256-1262, 1979.
- [16] E.G. Tovar-Pérez, I. Guerrero-Legarreta, A. Farrés-González, and J. Soriano-Santos, "Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptide fractions from albumin 1 and globulin as obtained of amaranth grain," *Food Chemistry*, vol. 116, no. 2, pp. 437-444, 2009.
- [17] T.P. Castro-Jácome, L.E. Alcántara-Quintana, E. Lugo-Cervantes, E. Montalvo-González, R.I. Ortiz-Basurto, and E.G. Tovar-Pérez, "Anti-elastase, anti-tyrosinase and antioxidant properties of a peptide fraction obtained from sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) grain," *International Food Research Journal*, vol. 26, no. 6, pp. 1813-1822, 2019.
- [18] T. Romero-Cortes, M.A. Salgado-Cervantes, P. García-Alamillo, M.A. García-Alvarado, G.C. Rodríguez-Jimenes, M. Hidalgo-Morales, and V. Robles-Olvera, "Relationship between



fermentation index and other biochemical changes evaluated during the fermentation of Mexican cocoa (*Theobroma cacao*) beans," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 93, no. 10, pp. 2596-2604, 2013.

- [19] Y. Chen, H. Li, Y. Shen, C. Zhang, X. Kong, X. Li, and Y. Hua, "Endopeptidases, exopeptidases, and glutamate decarboxylase in soybean water extract and their *in vitro* activity," *Food Chemistry*, vol. 360, p. 130026, 2021.
- [20] E.G. Tovar-Pérez, A. Lugo-Radillo, and S. Aguilera-Aguirre, "Amaranth grain as a potential source of biologically active peptides: a review of their identification, production, bioactivity, and characterization," *Food Reviews International*, vol.35, no. 3, pp. 221-245, 2019.
- [21] D. Xie, L. Du, H. Lin, E. Su, Y. Shen, J. Xie, and D. Wei, "In vitro-in silico screening strategy and mechanism of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from α -lactalbumin," *LWT*, vol 156, p. 112984, 2022.
- [22] I.U. Okagu, T.P.C. Ezeorba, E.C. Aham, R.N. Aguchem, and R.N. Nechi, "Recent findings on the cellular and molecular mechanisms of action of novel food-derived antihypertensive peptides," *Food Chemistry: Molecular Sciences*, vol. 4, p. 100078, 2022.
- [23] L. Abecia-Soria, N.H. Pezoa-García, and J. Amaya-Farfa, "Soluble Albumin and Biological Value of Protein in Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Beans as a Function of Roasting Time," *Journal of Food Science*, vol. 70, no. 4, pp. S294-S298, 2005.
- [24] D.L. Zak, and P.G. Keeney, "Extraction and Fractionation of Cocoa Proteins as Applied to Several Varieties of Cocoa Beans," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 24, no. 3, pp. 479-482, 1976.
- [25] X. Gong, Q. An, L. Le, F. Geng, L. Jiang, J. Yan, D. Xiang, L. Peng, L. Zou, G. Zhao, and Y. Wan, "Prospects of cereal protein-derived bioactive peptides: Sources, bioactivities diversity, and production," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 62, no. 11, pp. 2855-2871, 2022.
- [26] X. Rui, J.I. Boye, B.K. Simpson, and S.O. Prasher, "Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of *Phaseolus vulgaris* bean hydrolysates: Effects of different thermal and enzymatic digestion treatments," *Food Research International*, vol. 49, pp. 739-746, 2012.



DETECCIÓN DE PATÓGENOS POTENCIALES EN LARVAS DE *SPODOPTERA FRUGIPERDA* MANTENIDAS BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

DETECTION OF POTENTIAL PATHOGENS IN *SPODOPTERA FRUGIPERDA* LARVAE MAINTAINED UNDER LABORATORY CONDITIONS

Francisco Javier Flores Gallardo¹
José Luis Hernández Flores²
Miguel Ángel Ramos López¹
José Alberto Rodríguez Morales¹
Erika Álvarez Hidalgo¹
Jorge Núñez Ramírez¹
Juan Campos Guillén^{1*}

¹Universidad Autónoma de Querétaro, México.

²Instituto Politécnico Nacional, México.

*juan.campos@uaq.mx





Abstract

Spodoptera frugiperda is one of the main pests in agriculture worldwide. Its microbiome plays a vital role for the larvae, since the interaction of microorganisms gives rise to functions related to the homeostasis of the host organism: immune defense and nutrient assimilation, among others. However, diet, pesticides, antibiotic supply, climatic conditions, sex and age of the larvae are variables that interfere in the composition of the larval microbiota, causing dysbiosis. This metagenomic analysis of healthy and dead larvae with symptoms of infection found the main bacterial genera and virus species present in the samples; as for the predominant bacterial genera, *Enterococcus* spp. were recorded, with relative abundance of 78.4% and 100% in healthy larvae, and 89.5% to 100% in dead larvae. The presence of *Pseudomonas* sp. was also detected, with a relative abundance of 21.6% in

Resumen

Spodoptera frugiperda es considerada una de las principales plagas en la agricultura a nivel mundial. Su microbioma desempeña un papel vital para las larvas, ya que la interacción de los microorganismos da lugar a funciones relacionadas con la homeostasis del organismo hospedero: la defensa inmunitaria y la asimilación de nutrientes, entre otras. Sin embargo, la dieta, los plaguicidas, los antibióticos, las condiciones climáticas, el sexo y la edad de las larvas son variables que interfieren en la composición de la microbiota larval, provocando disbiosis. El presente análisis metagenómico de larvas sanas y muertas con síntomas de infección identificó los principales géneros bacterianos y especies de virus; en cuanto a los géneros de bacterias predominantes, se registraron *Enterococcus* spp., con abundancia relativa del 78.4 % y 100 % en larvas sanas, y de 89.5 % a 100 % en larvas muertas. También se detectó la presencia de *Pseudomonas* sp., con una abundancia relativa del 21.6 % en larvas sanas y 1 % en larvas muertas. En menor medida se encontró *Acetobacter* sp., con una abundancia relativa en larvas muertas del 9.3 %. Por otro lado, las lecturas correspondientes a virus fueron de 0.004 % en larvas sanas y 1.48 % en muertas; las secuencias de mayor abundancia relativa se relacionaron con familias de baculovirus y nudivirus.

Palabras clave: biosistemas, diagnóstico molecular, gusano cogolero del maíz, maíz, microbioma.



healthy larvae and 1% in dead larvae. To a lesser extent, *Acetobacter* sp. was found, with a relative abundance in dead larvae of 9.3%. On the other hand, the readings corresponding to viruses were 0.004% in healthy larvae and 1.48% in dead larvae; the sequences with the highest relative abundance were related to baculovirus and nudivirus families.

Keywords: biosystems, molecular diagnostics, corn budworm, corn, microbiome.

Introducción

Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) es una de las plagas más perjudiciales a nivel mundial, cuya amplia dispersión y actividad polífaga presentan una amenaza a la seguridad alimentaria y causando pérdidas económicas considerables [1]. En consecuencia, resulta indispensable establecer un pie de cría para evaluar los requerimientos nutricionales, los cambios en el microbioma asociado y la resistencia a insecticidas utilizando parámetros controlados de dieta, humedad, temperatura y fotoperiodos [2]. El procedimiento comienza con la colecta de larvas de *S. frugiperda* de algunos cultivos para que, tras varios ciclos de vida, se pueda disponer de larvas para utilizarlas en los bioensayos [3-5]. No obstante, existe una gran variedad de microorganismos patógenos que pueden afectar la supervivencia de las larvas, formar parte de su microbiota y perdurar a lo largo de varias generaciones. Actualmente, los más relevantes son los virus de la familia *baculoviridae* y algunas bacterias del género *Bacillus*, entre las que destaca *Bacillus thuringiensis* debido a su eficiencia como método de control biológico [6], [7]. En 2021, los análisis de diversidad bacteriana efectuados por Higueta Palacio y colaboradores encontraron *Bacillus pumilus* y *B. subtilis*, así como varias especies de *Enterococcus* y *Klebsiella* dentro del intestino de larvas de *S. frugiperda* [8]. En un estudio similar, Ugwu y colegas encontraron en 2020 que los filos de bacterias predominantes fueron *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Bacteroidetes* con





58.32 %, 35.87 % y 4.02 % de abundancia relativa respectivamente [9]. La interacción de estas comunidades microbianas con el sistema endocrino larval interviene en el desarrollo de las larvas y se asocia a numerosas funciones fisiológicas; entre ellas se listan el procesamiento de nutrientes, la defensa contra agentes externos, la degradación de patógenos y la desaceleración de enfermedades causadas por los mismos [10-12].



Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) es una de las plagas más perjudiciales a nivel mundial, cuya dispersión y actividad polífaga amenazan a la seguridad alimentaria y económica. En el presente análisis metagenómico de larvas sanas y muertas con síntomas de infección, se expondrán los principales géneros bacterianos y especies de virus.

La microbiota de las larvas de *S. frugiperda* depende en gran medida de la edad y el sexo de los especímenes; a pesar de ello, cambios en los regímenes alimenticios y estilo de vida, la introducción de plaguicidas y el suministro de antibióticos pueden provocar una disbiosis al alterar su composición y funciones [13-15]. Una de las alternativas para comprender la variación composicional del microbioma y su impacto en los organismos es la metagenómica [16]. La disciplina implementa métodos analíticos para determinar la abundancia de las comunidades de organismos presentes en una muestra de manera precisa, rápida y económica, sin la necesidad de recurrir al aislamiento [17]. El presente estudio pretende identificar, con ayuda de análisis metagenómicos, la composición fundamental de patógenos potenciales en larvas de *S. frugiperda* criadas bajo condiciones de laboratorio.

Materiales y métodos

Colecta y reproducción de *Spodoptera frugiperda*

Las larvas de *S. frugiperda* se recolectaron de dos campos de maíz localizados en el municipio de Huimilpan, en el estado de Querétaro: 20° 28'30" N, 100°19'37" O y 20°33'23" N, 100°23'12" O. Los especímenes se pusieron en confinamiento individual en recipientes plásticos marca Primo del #0, en condiciones estériles durante 21 días, y se les suministró la dieta artificial reportada previamente [18]. Una vez que las larvas alcanzaron la fase pupal, fueron transferidas a un recipiente plástico de 1 litro durante 9 días para facilitar la eclosión de los adultos; las polillas emergidas se introdujeron en bolsas de papel Kraft para que copularan, posteriormente se extrajeron las masillas de huevos depositados en las paredes interiores. El material extraído se traspasó a recipientes plásticos de 0.5 litros, preparados con la dieta artificial para alimentar a las larvas neonatas hasta que alcanzaran





el segundo instar larval. Las larvas del segundo instar fueron separadas individualmente en recipientes plásticos marca Primo del #0 para evitar el canibalismo. Las condiciones de cría fueron controladas mediante una cámara bioclimática, manteniendo una temperatura de 27 ± 2 °C, humedad relativa de 70 ± 5 % y un fotoperiodo 14:10 (luz:oscuridad).

Extracción del ADN de las larvas

Para la obtención del ADN, dada la naturaleza exploratoria del análisis y el número limitado de larvas, se definió realizar un muestreo por conveniencia. Se homogeneizaron dos larvas vivas y sanas de tercer instar mediante la trituración con un mortero de porcelana, posteriormente las partículas se filtraron por medio de gasas; estas integraron las muestras LS1 y LS2 (Larvas Sanas 1 y 2). Asimismo, se repitió el procedimiento para dos larvas necróticas cuyas características fisiológicas denotaban muerte por virus o bacterias entomopatógenas (LM1 y LM2, Larvas Muertas 1 y 2). Las muestras LM se conformaron de especímenes de tercer instar reproducidos en laboratorio, ya que en esta etapa es improbable que la muerte esté asociada a la adaptación al medio.

Para la extracción del ADN de las muestras homogeneizadas se utilizó el kit ZymoBIOMICS® ADN Miniprep Kit (Zymo Research, Irvine, CA). Mientras que el análisis metagenómico del gADN (ADN genómico) se efectuó mediante la técnica de Illumina NGS (secuenciación de nueva generación) con el servicio de la empresa Macrogen. A su vez, el análisis bioinformático para el metagenoma se llevó a cabo en la plataforma del Centro de Recursos de Bioinformática Bacteriana y Viral (BV-BRC) de la Universidad de Chicago [19], y se refinó mediante la herramienta Trim Galore [20].

La diversidad taxonómica en las muestras metagenómicas se determinó en el instrumento *Taxonomic Classification* de la plataforma BV-BRC, con el fin de identificar la composición microbiana utilizando la clasificación Kraken 2 [21]. Dicho sistema consulta bases de datos en busca de coincidencias exactas de *k-mers* (subsecuencias de longitud *k*), en lugar de alineaciones inexactas de secuencias. Posteriormente, las secuencias se clasificaron según la base de datos para cada *k-mer*; por último, se etiquetaron tomando como guía el conjunto resultante de taxones del ancestro común más bajo.





Resultados y discusión



El análisis metagenómico de las larvas sanas halló dos géneros distintos en la muestra LS1: *Enterococcus* y *Pseudomonas*; las especies encontradas fueron *E. casseliflavus*, *E. flavescens* y *E. gallinarum*, con una abundancia relativa del 85.5 %; otras especies de *Enterococcus* mostraron una abundancia del 14.5 %. En la muestra LS2, se detectó *E. casseliflavus*, *E. flavescens* y *E. gallinarum* al 72.4 % y *E. mundtii* con una baja abundancia relativa (6 %), además de *Pseudomonas putida* al 21.6 %.

Por otro lado, en las muestras LM1 y LM2 se observó una abundancia relativa de *E. casseliflavus*, *E. flavescens* y *E. gallinarum* del 20.4 y 100 % respectivamente; en particular, en LM1 se encontró *E. mundtii* al 69.1 %, *Acetobacter persici* al 9.3 % y *P. putida* al 1 % (Figura 1).

De acuerdo con [22], *Enterococcus* es uno de los géneros bacterianos predominantes dentro del microbioma de los seres vivos y, debido a su inocuidad, podría fungir como indicador de la presencia de materia fecal en las muestras de agua. Asimismo, aunque a menudo se encuentran los géneros *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Enterobacter* y *Enterococcus* en distintas etapas de desarrollo de lepidópteros, ninguna enfermedad en las larvas se ha asociado a su presencia [23].

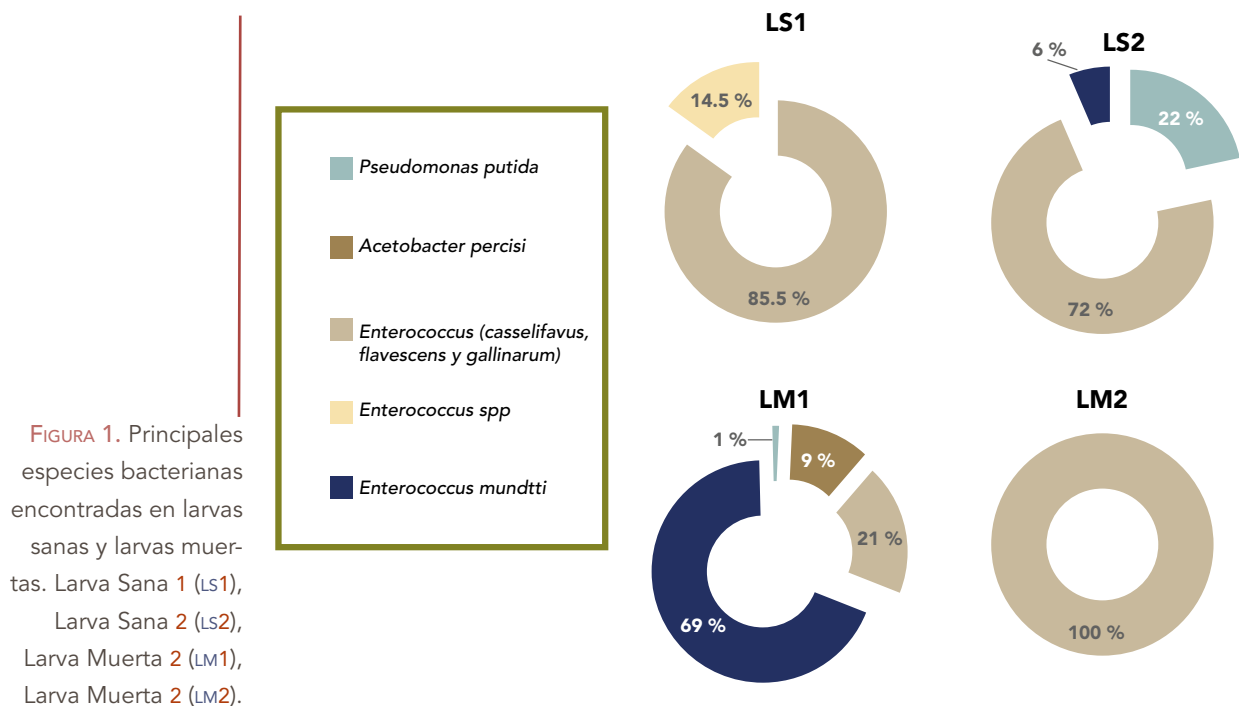


FIGURA 1. Principales especies bacterianas encontradas en larvas sanas y larvas muertas. Larva Sana 1 (LS1), Larva Sana 2 (LS2), Larva Muerta 1 (LM1), Larva Muerta 2 (LM2).



De modo similar, el análisis de diversidad bacteriana mediante la técnica del *16S RNA* ejecutado en [24] detectó mayormente organismos del género *Enterococcus* y, en menor medida, algunas especies de *Pseudomonas*. [8] estudió el cambio composicional del microbioma intestinal de larvas de *S. frugiperda* en función de la temporada de recolección; el género bacteriano principal fue *Enterococcus*, con una abundancia relativa entre 85 y 90 %. En el mismo sentido, en [9] se halló que el microbioma de larvas de *S. frugiperda* recolectadas en maizales abunda en el género *Klebsiella*, seguido por *Enterococcus*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* y *Myroides*; adicionalmente se midieron rastros menores a 1 % correspondientes al género *Pseudomonas*.

Durante el análisis metagenómico se apreciaron varias familias de virus; concretamente, en las larvas muertas se alcanzó un porcentaje del 1.48 % mientras que en las sanas alcanzó apenas el 0.004 %. Las lecturas en LM1 y LM2 corresponden a fragmentos de *S. frugiperda* nucleopoliedrovirus (77 % abundancia relativa), *Catopsilia Pomona* nucleopoliedrovirus y de *Hemileuca* sp. nucleopoliedrovirus (0.7 % cada una). La familia *Baculoviridae* está conformada por virus circulares de doble cadena de 80 a 180 kilobases; estos patógenos infectan larvas de algunos lepidópteros de importancia agrícola [25]. [26] divide a esta familia en cuatro géneros:

- Alfabaculovirus: nucleopoliedrovirus que infectan principalmente a lepidópteros.
- Betabaculovirus: granulovirus que infectan lepidópteros.
- Gammabaculovirus: nucleopoliedrovirus que infectan himenópteros.
- Deltabaculovirus: nucleopoliedrovirus que infectan dípteros.

Debido a su alta especificidad e inocuidad para el ambiente y la salud humana, [27] afirman que los baculovirus representan una excelente alternativa al uso de insecticidas químico-sintéticos; además, registraron lecturas del virus del enrollamiento foliar del tomate de Laos, así como del nudivirus *Heliothis zea* con abundancia relativa del 0.5 %. Por su parte, [28] clasifica los iridovirus, densovirus y nudivirus dentro de los virus de ADN que aquejan a distintas especies de lepidópteros.

Dentro de los virus aprovechables como método de control biológico destaca el *Oryctes rhinoceros* nudivirus (OrNV), que se implementa para el control del escarabajo rinoceronte [29], [30]. En la Figura 2, se grafica la abundancia relativa de fragmentos virales descubiertos en larvas muertas.

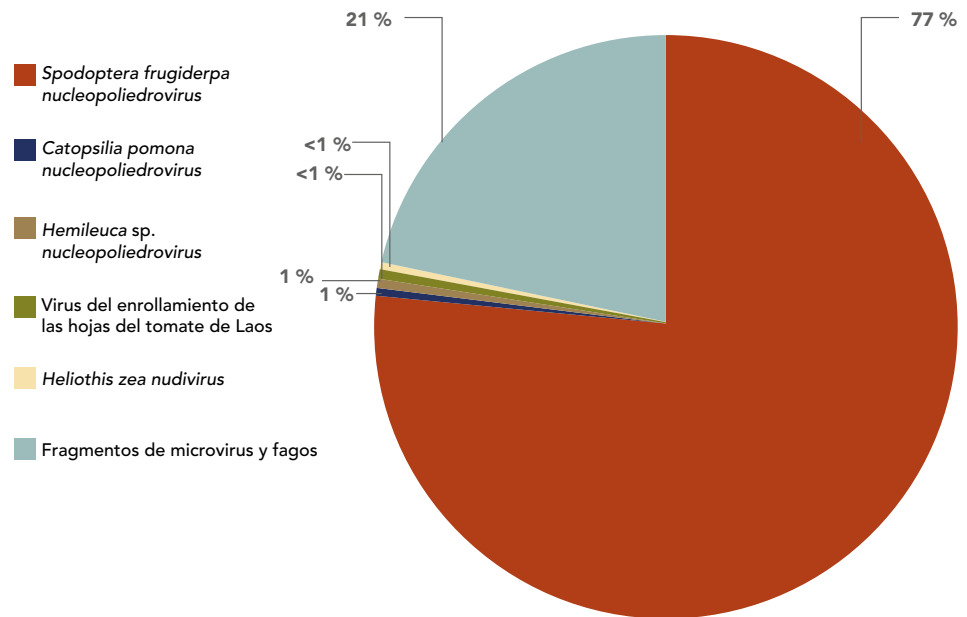


FIGURA 2. Principales especies de virus encontrados en larvas muertas.

En contraste, en las larvas sanas la abundancia relativa de secuencias relacionadas a *Adoxophyes orana* nucleopoliedrovirus, *Spodoptera littoralis* nucleopoliedrovirus, *Clostera anachoreta* granulovirus y *Tipula oleracea* nudivirus resultó baja. El resto de las lecturas atañe fragmentos de microvirus y fagos con una abundancia relativa del 20.6 % en larvas muertas y 85 % en sanas. Tras examinar el transcriptoma y metagenoma de larvas de *S. frugiperda* y *S. litura*, [31] encontraron que los géneros dominantes en las muestras fueron *Enterococcus*, *Alphabaculovirus* y *Corynebacterium*.

Conclusiones

El análisis metagenómico desarrollado en este trabajo mostró que, en condiciones de laboratorio, los géneros bacterianos predominantes en larvas sanas y muertas de *S. frugiperda* fueron *Enterococcus* y, en menor medida, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. Por otro lado, la presencia de baculovirus con mayor abundancia en larvas muertas sugiere una relación con el fenotipo necrótico; empero, es necesario llevar a cabo el aislamiento y ensayos de infección para comprobar o desmentir esa propuesta. Finalmente, el diagnóstico molecular para la detección de patógenos potenciales durante la crianza de *S. frugiperda* es valioso y puede adoptarse como modelo de estudio para evaluar los efectos en su desarrollo.



Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de posgrado, así como a la Universidad Autónoma de Querétaro por el apoyo brindado para el desarrollo de este trabajo.

Fuentes de financiamiento

Universidad Autónoma de Querétaro, proyecto FONDEC 2022.

Referencias

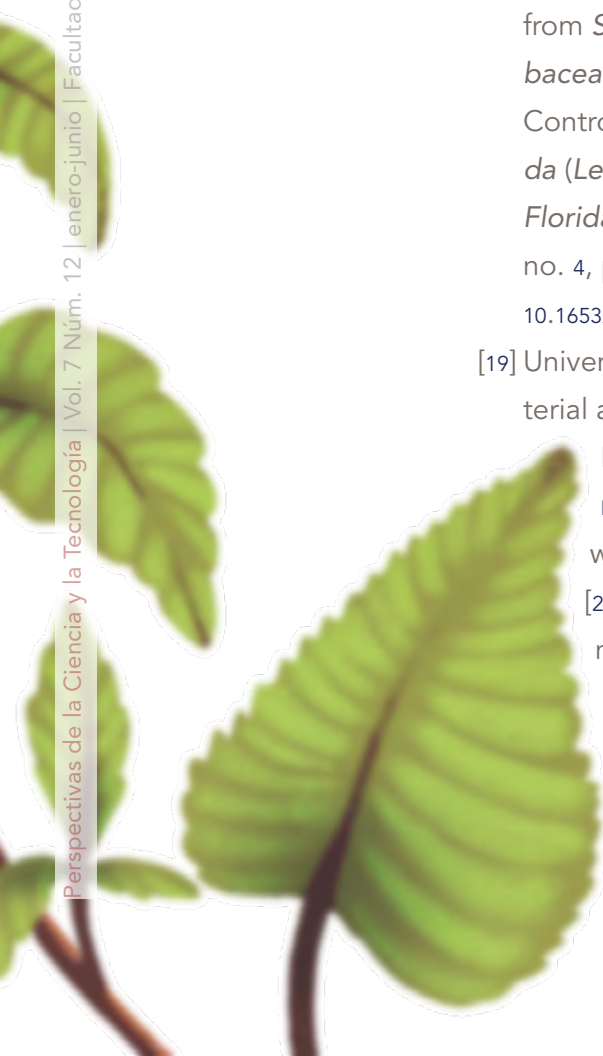
- [1] W. T. Tay, R. L. Meagher, C. Czepak and A. T. Groot, "Spodoptera frugiperda: Ecology, Evolution, and Management Options of an Invasive Species", *Annu Rev Entomol*, vol. 68, no. 1, pp. 299-317, Jan. 2023. DOI: 10.1146/annurev-ento-120220-102548
- [2] J. R. L. Pinto, A. F. Torres, C. C. Truzzi, N. F. Vieira, A. M. Vacari y S. A. De Bortoli, "Artificial Corn-Based Diet for Rearing *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)", *Journal of Insect Science*, vol. 19, no. 4, Jul. 2019. DOI: 10.1093/jisesa/iez052
- [3] S. Cruz-Esteban, N. M. Mérida Torres, K. P. Álvarez Morales, C. J. López Flores y E. A. Malo, "Efecto de la dieta en el ciclo biológico y en los componentes de su feromona sexual de *Spodoptera frugiperda*", *Southwestern Entomologist*, vol. 45, no. 1, pp. 227-239, Mar. 2020. DOI: 10.3958/059.045.0124
- [4] D. D. Li, J. Y. Li, Z. Q. Hu, T. X. Liu y S. Z. Zhang, "Fall Armyworm Gut Bacterial Diversity Associated with Different Developmental Stages, Environmental Habitats, and Diets", *Insects*, vol. 13, no. 9, p. 762, Aug. 2022. DOI: 10.3390/insects13090762
- [5] Sharanabasappa, C. M. Kallleshwaraswamy, M. S. Maruthi y H. B. Pavithra, "Biology of invasive fall army worm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on maize", *Indian Journal of Entomology*, vol. 80, no. 3, p. 540, 2018. DOI: 10.5958/0974-8172.2018.00238.9
- [6] L. Villamizar, P. Cuartas, J. Gómez, G. P. Barrera, C. Espinel y M. Lopez Ferber, "Virus entomopatógenos en el control biológico de insectos" *Hal Open Science*, 2018.



- [7] A. Bravo, S. Likitvivanavong, S. S. Gill y M. Soberón, "Bacillus thuringiensis: A story of a successful bioinsecticide", *Insect Biochem Mol Biol*, vol. 41, no. 7, pp. 423-431, Jul. 2011. DOI: 10.1016/J.IBMB.2011.02.006
- [8] M. F. Higueta Palacio et al., "Dry and Rainy Seasons Significantly Alter the Gut Microbiome Composition and Reveal a Key *Enterococcus* sp. (*Lactobacillales: Enterococcaceae*) Core Component in *Spodoptera frugiperda* (*Lepidoptera: Noctuidae*) Corn Strain From Northwestern Colombia", *Journal of Insect Science*, vol. 21, no. 6, Nov. 2021. DOI: 10.1093/jisesa/ieab076
- [9] J. A. Ugwu, M. Liu, H. Sun y F. O. Asiegbu, "Microbiome of the larvae of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (*Lepidoptera: Noctuidae*) from maize plants", *Journal of Applied Entomology*, vol. 144, no. 9, pp. 764-776, Nov. 2020. DOI: 10.1111/JEN.12821
- [10] W. Su, J. Liu, P. Bai, B. Ma y W. Liu, "Pathogenic fungi-induced susceptibility is mitigated by mutual *Lactobacillus plantarum* in the *Drosophila melanogaster* model", *BMC Microbiol*, vol. 19, no. 1, pp. 1-12, 2019.
- [11] C. M. Cirimotich, J. L. Ramirez y G. Dimopoulos, "Native microbiota shape insect vector competence for human pathogens", *Cell Host Microbe*, vol. 10, no. 4, pp. 307-310, 2011.
- [12] A. Thong-On, K. Suzuki, S. Noda, J. Inoue, S. Kajiwara y M. Ohkuma, "Isolation and characterization of anaerobic bacteria for symbiotic recycling of uric acid nitrogen in the gut of various termites", *Microbes Environ*, vol. 27, no. 2, pp. 186-192, 2012.
- [13] Y. Chen, H. Zhou, Y. Lai, Q. Chen, X. Q. Yu y X. Wang, "Gut Microbiota Dysbiosis Influences Metabolic Homeostasis in *Spodoptera frugiperda*", *Front Microbiol*, vol. 12, Sep. 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.727434
- [14] R. Zheng et al., "Comparative Analysis of Gut Microbiota and immune genes of wild and Captive *Spodoptera frugiperda* to reveal the response of the immune system to eld environment in Jianghuai region, China", 2022. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1744028/v1
- [15] L. Yuning, L. Luyang, C. Xue-ming, Y. Xianmei, L. Jintian y S. Benshui, "The bacterial and fungal communities of the



- larval midgut of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) varied by feeding on two cruciferous vegetables", *Scientific Reports*, vol. 12, p. 13063, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-17278-w
- [16] J. Galloway Peña y B. Hanson, "Tools for Analysis of the Microbiome", *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 65, no. 3. Springer, pp. 674-685, Mar. 01, 2020. DOI: 10.1007/s10620-020-06091-y
- [17] J. C. Wooley, A. Godzik y I. Friedberg, "A Primer on Metagenomics", *PLOS Comput Biol*, vol. 6, pp. 1-13, 2010. DOI: 10.1371/journal
- [18] M. Á. Zavala Sánchez et al., "Bioactivity of 1-octacosanol from *Senna crotalarioides* (Fabaceae: Caesalpinioideae) to Control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)", *Florida Entomologist*, vol. 102, no. 4, pp. 731-737, Jan. 2020. DOI: 10.1653/024.102.0410
- [19] University of Chicago, "Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC)". BV-BRC.ORG. <https://www.bv-brc.org/>
- [20] S. J. Bush, "Read trimming has minimal effect on bacterial SNP-calling accuracy", 2020. DOI: 10.1099/mgen.0.000434
- [21] J. Lu y S. L. Salzberg, "Ultrafast and accurate 16S rRNA microbial community analysis using Kraken 2", *Microbiome*, vol. 8, no. 1, pp. 1-11, 2020.
- [22] C. Torres, C. A. Alonso, L. Ruiz Ripa, R. León Sampedro, R. del Campo y T. M. Coque, "Antimicrobial Resistance in *Enterococcus* spp. of animal origin", *Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals*, pp. 185-227, Aug. 2018. DOI: 10.1128/9781555819804.CH9
- [23] G. Rozadilla, N. A. Cabrera, E. G. Virla, N. M. Greco y C. B. McCarthy, "Gut microbiota of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) larvae as revealed by metatranscriptomic analysis", *Journal of Applied Entomology*, vol. 144, no. 5, pp. 351-363, Jun. 2020. DOI: 10.1111/JEN.12742
- [24] Y. P. Chen et al., "Effects of Host Plants on Bacterial Community Structure in Larvae Midgut of *Spodoptera frugiperda*", *Insects*, vol. 13, no. 4, Apr. 2022. DOI: 10.3390/insects13040373
- [25] V. I. D. Ros, "Baculoviruses: General Features (Baculoviridae)", in *Encyclopedia of Virology*, Elsevier, 2021, pp. 739-746.
- [26] G. Rohrmann, "Introduction to the baculoviruses and their taxonomy", *Baculovirus Molecular Biology; National Center*

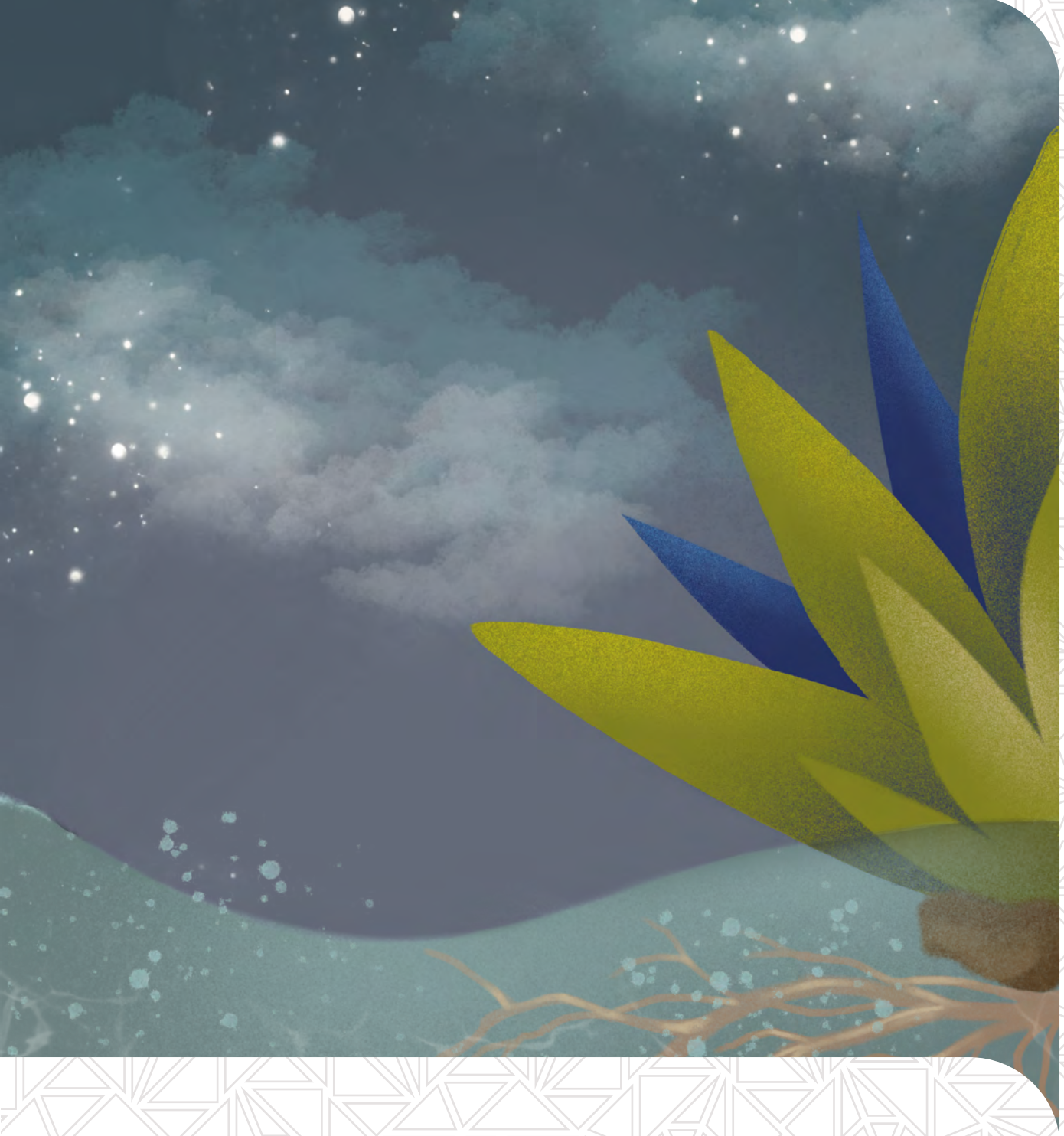




for *Biotechnology Information: Bethesda, MD, USA*, 2011.

- [27] B. Szewczyk, L. Rabalski, E. Krol, W. Sihler y M. L. de Souza, "Baculovirus biopesticides-safe alternative to chemical protection of plants", 2009.
- [28] A. G. Hussain, J. T. Wennmann, G. Goergen, A. Bryon y V. I. D. Ros, "Viruses of the fall armyworm *spodoptera frugiperda*: A review with prospects for biological control", *Viruses*, vol. 13, no. 11. MDPI, Nov. 01, 2021. DOI: 10.3390/v13112220
- [29] G. O. Bedford, "Biology and management of palm dynastid beetles: recent advances", *Annu Rev Entomol*, vol. 58, pp. 353-372, 2013.
- [30] V. Prasad y S. Srivastava, "Insect viruses", en *Ecofriendly pest management for food security*, Elsevier, 2016, pp. 411-442.
- [31] R. Tang et al., "Transcriptomics and metagenomics of common cutworm (*Spodoptera litura*) and fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) demonstrate differences in detoxification and development", *BMC Genomics*, vol. 23, no. 1, Dec. 2022. DOI: 10.1186/s12864-022-08613-6





UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE QUERÉTARO

