

Biotecnología agropecuaria aplicada

Leandris Argentel-Martínez
Ofelda Peñuelas-Rubio
Lucila Perales-Aguilar
Ugur Azizoglu
Editores



Pantanal Editora

2024

Leandris Argentel-Martínez
Ofelda Peñuelas-Rubio
Lucila Perales-Aguilar
Ugur Azizoglu
Editores

Biotecnología agropecuaria aplicada



Pantanal Editora

2024

Copyright© Pantanal Editora

Editor Jefe: Dr. Alan Mario Zuffo

Editores Ejecutivos: Dr. Jorge González Aguilera y Dr. Bruno Rodrigues de Oliveira

Diseño: El editor. **Diseño y arte:** el editor. Imágenes de portada y contraportada: Canva.com. **Reseña:** Autor(es), organizador(es) y editor.

Consejo editorial

Grado académico y nombre

Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos
Prof. MSc. Adriana Flávia Neu
Prof. Dra. Allys Ferrer Dubois
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior
Prof. MSc. Aris Verdecia Peña
Prof. Arisleidis Chapman Verdecia
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva
Prof. Dr. Bruno Gomes de Araújo
Prof. Dr. Caio Cesar Enside de Abreu
Prof. Dr. Carlos Nick
Prof. Dr. Claudio Silveira Maia
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos
Prof. Dr. Cristiano Pereira da Silva
Prof. Ma. Dayse Rodrigues dos Santos
Prof. MSc. David Chacon Alvarez
Prof. Dr. Denis Silva Nogueira
Prof. Dra. Denise Silva Nogueira
Prof. Dra. Dennyura Oliveira Galvão
Prof. Dr. Elias Rocha Gonçalves
Prof. Me. Ernane Rosa Martins
Prof. Dr. Fábio Steiner
Prof. Dr. Fabiano dos Santos Souza
Prof. Dr. Gabriel Andres Tafur Gomez
Prof. Dr. Hebert Hernán Soto Gonzáles
Prof. Dr. Hudson do Vale de Oliveira
Prof. MSc. Javier Revilla Armesto
Prof. MSc. João Camilo Sevilla
Prof. Dr. José Luis Soto Gonzales
Prof. Dr. Julio Cezar Uzinski
Prof. MSc. Lucas R. Oliveira
Prof. Dr. Luciano Façanha Marques
Prof. Dra. Keyla Christina Almeida Portela
Prof. Dr. Leandro Argentel-Martínez
Prof. MSc. Lidiene Jaqueline de Souza Costa Marchesan
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann
Prof. MSc. Marcos Pisarski Júnior
Prof. Dr. Marcos Pereira dos Santos
Prof. Dr. Mario Rodrigo Esparza Mantilla
Prof. MSc. Mary Jose Almeida Pereira
Prof. MSc. Núbia Flávia Oliveira Mendes
Prof. MSc. Nila Luciana Vilhena Madureira
Prof. Dra. Patrícia Maurer
Prof. Dra. Queila Pahim da Silva
Prof. Dr. Rafael Chapman Auty
Prof. Dr. Rafael Felipe Ratke
Prof. Dr. Raphael Reis da Silva
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes
Prof. Dr. Ricardo Alves de Araújo (*In Memoriam*)
Prof. Dra. Sylvana Karla da Silva de Lemos Santos
MSc. Tayronne de Almeida Rodrigues
Prof. Dr. Wéverson Lima Fonseca
Prof. MSc. Wesclen Vilar Nogueira
Prof. Dra. Yilan Fung Boix
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme

Institución

OAB/PB
Mun. Faxinal Soturno e Tupanciretã
UO (Cuba)
IF SUDESTE MG
Facultad de Medicina (Cuba)
ISCM (Cuba)
UFESSPA
UEA
UNEMAT
UFV
AJES
UFGD
UEMS
IFPA
UNICENTRO
IFMT
UFMG
URCA
ISEPAM-FAETEC
IFG
UEMS
UFF
(Colômbia)
UNAM (Peru)
IFRR
UCG (México)
Rede Municipal de Niterói (RJ)
UNMSM (Peru)
UFMT
SED Mato Grosso do Sul
UEMA
IFPR
Tec-NM (México)
Consultório em Santa Maria
UFJF
UEG
FAQ
UNAM (Peru)
SEDUC/PA
IFB
IFPA
UNIPAMPA
IFB
UO (Cuba)
UFMS
UFPI
UFG
UEMA
IFB
UFPI
FURG
UO (Cuba)
UFT

Consejo Científico Técnico
- Esp. Joacir Mário Zuffo Júnior
- Esp. Maurício Amormino Júnior
- Lda. Rosalina Eufrausino Lustosa Zuffo

Hoja de catálogo

Catalogación en publicación
Preparado por Bibliotecario Janaina Ramos – CRB-8/9166

B616

Biotecnología agropecuaria aplicada / Edición de Leandris ArgenteL-Martínez, Ofelda Peñuelas-Rubio, Lucila Perales-Aguilar, Ugur Azizoglu. – Nova Xavantina-MT: Pantanal, 2024.
203p. ; il.

Reserva en PDF

ISBN 978-65-85756-36-5

DOI <https://doi.org/10.46420/9786585756365>

1. Biotecnología en la agricultura. 2. Microorganismos. I. ArgenteL-Martínez, Leandris (Editores). II. Peñuelas-Rubio, Ofelda (Editores). III. Lucila Perales-Aguilar (Editores). IV. Azizoglu, Ugur (Editores). V. Título.

CDD 631.52

Índice del catálogo sistemático

I. Biotecnología en la agricultura



Nuestros libros electrónicos son gratuitos y se permite el acceso público, la descarga y el intercambio, pero solicitamos que se dé el debido crédito a Pantanal Editora y también a los organizadores y autores. Sin embargo, no se permite el uso de libros electrónicos con fines comerciales, salvo autorización expresa de los autores y acuerdo de Pantanal Editora.

Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000.
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil.
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp).
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br

Presentación

Sin duda, la biotecnología representa una de las áreas científicas de mayor avance y aplicación en la actualidad. Aun cuando sus inicios fueron hace miles de años, con la obtención de cerveza y queso, gracias al avance científico-tecnológico en las ciencias relacionadas con la biología, se ha potenciado la rama agropecuaria.

En México, considerando que las actividades de producción agrícola y pecuaria son primordiales para el desarrollo del país, existe gran interés de la comunidad científica para buscar alternativas que den solución a los problemas más relevantes que limitan la producción de alimentos.

El presente compendio científico “**Biología agropecuaria aplicada**” aborda temas relevantes del área agropecuaria. Se hace énfasis en el aprovechamiento de microorganismos bacterianos y fúngicos y su potencial uso en los agroecosistemas. Estas aplicaciones con la finalidad de promover prácticas sustentables de producción, desde la promoción del crecimiento vegetal en condiciones ambientales adversas, el biocontrol de fitopatógenos y malezas, así como la biorremediación. También se exploran metodologías novedosas para la obtención de compuestos antioxidantes y antifúngicos. Además, se presentan avances en la elaboración de nuevos alimentos para la producción acuícola, como alternativas para la nutrición efectiva.

Los trabajos aquí presentados constituyen evidencias de los pasos sólidos que dan los diferentes grupos de investigación nacionales e internacionales del área de la biología agropecuaria. Se agradece la participación de los autores que pertenecen al Sistema Nacional de Investigadoras e Investigadores (SNI-CONACYT) de los Estados Unidos Mexicanos.

Los Autores

Resumen

Presentación	4
Capítulo 1	6
Perspectivas de la aplicación del microbioma bacteriano de <i>Parkinsonia aculeata</i> en suelos salinos	6
Capítulo 2	17
Microorganismos promotores del crecimiento vegetal y yeso agrícola en el cultivo de uva industrial variedad <i>Cabernet sauvignon</i> , Valle del Yaqui	17
Capítulo 3	26
Efecto de pulsos ultrasónicos en la extracción de compuestos antioxidantes y antifúngicos en <i>Euphorbia prostrata</i> (golondrina)	26
Capítulo 4	36
Evaluación de la sustitución parcial de harina de pescado por harina de <i>Amaranthus hybridus</i> para cultivo de tilapia (<i>Oreochromis aureus</i>)	36
Capítulo 5	48
Potencial del género <i>Pleurotus</i> como agente biorremediador en la eliminación de metales pesados de suelos: un enfoque biotecnológico para la agricultura sostenible	48
Capítulo 6	59
El papel de las bacterias quitinolíticas en interacciones planta-patógeno y su potencial empleo biotecnológico en la agricultura	59
Capítulo 7	71
Avances en el desarrollo de micoherbicidas para el manejo agroecológico de la correhuela (<i>Convolvulus arvensis</i> L.) en la agricultura	71
Capítulo 8	84
Caracterización fisicoquímica parcial de la harina de grillo domestico <i>Acheta domesticus</i> como ingrediente novedoso en formulaciones	84
Capítulo 9	93
El género <i>Bacillus</i> como aliado en la agricultura sostenible	93
Capítulo 10	114
<i>Trichoderma</i> , bioinsumo para la agricultura sustentable y protegida	114
Capítulo 11	135
El papel de la Agrobiotecnología en la Agricultura	135
Capítulo 12	148
Cromatografía: Una técnica esencial en la Biotecnología Agropecuaria	148
Capítulo 13	186
Propagación <i>in vitro</i> de Cactáceas y Agaváceas tolerantes a metales pesados en el suelo	186
Índice Remissivo	202
Editores	203

Perspectivas de la aplicación del microbioma bacteriano de *Parkinsonia aculeata* en suelos salinos

Recibido en: 29/05/2024

Aprobado en: 06/07/2024

 10.46420/9786585756365cap1

Leandris Argente-Martínez¹ 

Ofelda Peñuelas-Rubio¹ 

Julio Cesar García Urías¹ 

José Aurelio Leyva Ponce¹ 

Angélica Herrera-Sepúlveda^{1*} 

Jorge González Aguilera² 

Hebert Hernán Soto Gonzales³ 

Antonio González Hernández¹

RESUMEN

Como alternativa para mitigar la salinidad de los suelos, el uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV), se presenta en las tendencias actuales de biofertilización. El presente estudio constituye la antesala de esquemas de producción sustentables en ecosistemas áridos, cuyo objetivo fue el aislamiento, caracterización macroscópica y molecular de bacterias cultivables asociadas a la rizósfera de *Parkinsonia aculeata*, bajo condiciones de salinidad en el semidesierto de Sonora, y evaluar las perspectivas de aplicación para la mitigación del impacto de la salinidad en especies de interés agrícola del noroeste de México. Se obtuvieron un total de 20 aislamientos bacterianos los que, debido a su adaptación natural a condiciones salinas, pueden ser potenciales candidatos para la formulación de biofertilizantes, una vez probadas sus propiedades bioquímicas y de asociación.

INTRODUCCIÓN

La vida en las regiones áridas, semiáridas e hiperáridas se ve profundamente amenazada por las duras condiciones ambientales de limitación de agua, altos niveles de radiación solar y fluctuaciones de temperatura, junto con la salinidad del suelo y la deficiencia de nutrientes, que tienen graves consecuencias para el crecimiento y la supervivencia de las plantas (Ramawa, 2009).

¹ Tecnológico Nacional de México /Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui, Bácum, Sonora, México

² Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Campus Cassilândia, MS, Brasil

³ Universidad Nacional de Moquegua (UNAM), Ilo, Peru

Autor para correspondencia: angelikaherrera76@gmail.com

La salinización se refiere al proceso de acumulación de sales solubles en la superficie o en zonas cercanas a la superficie del suelo; dicho término incluye suelos salinos, sódicos y alcalinos siendo el fenómeno más común en la degradación del suelo (Bui, 2017).

Los suelos salinos, se caracterizan por presentar valores de $\text{pH} < 8.5$, conductividad eléctrica medida en el extracto de saturación del suelo $\text{CE} > 4 \text{ dSm}^{-1}$, porcentaje de sodio intercambiable $\text{PSI} < 15$, y los aniones dominantes son cloruros y sulfatos (Omuto et al., 2020). Por otra parte, los suelos sódicos tienen un contenido de Na relativamente alto ($\text{ESP} > 15$) pero el contenido de sales solubles es bajo ($\text{CE} < 4 \text{ dSm}^{-1}$) y el pH del suelo se presenta en un rango de 8.5 y 10.5. En este tipo de suelos, los aniones dominantes son carbonatos y carbonatos de hidrogeno. Los suelos sódicos salinos, presentan características intermedias entre los suelos sódicos $\text{pH} > 8.2$, alta proporción de Na ($\text{ESP} > 15$) y valores de $\text{CE} > 4 \text{ dSm}^{-1}$, pero el contenido de sal solubles es bajo (Richards, 1954).

La salinización de los suelos agrícolas es quizás el problema más serio que enfrenta la agricultura actual. En México, la salinización afecta el 3.2% del territorio nacional (600,000 ha) y se concentra principalmente en los estados de Sonora, Sinaloa, Tamaulipas, San Luis Potosí, Chiapas, Nuevo León, Oaxaca, Veracruz y Zacatecas (Gonzalez-Trejo et al., 2019). Los suelos salinos se concentran en áreas de riego de zonas áridas, las cuales ocupan el 60% de la superficie del país, y donde este proceso se acelera con el uso de aguas ricas en sales y un manejo inadecuado de los suelos, lo que ocasiona un deterioro progresivo de estos suelos, disminuyendo la producción y calidad de las cosechas (Ojeda-Barrios et al., 2021).

Las plantas que crecen en suelos salinos y los microorganismos asociados a ellas de manera natural se adaptan y crean mecanismos de resistencia a este estrés. De esa forma establecen una relación mutualista esencial para el crecimiento adecuado de las plantas y la absorción de nutrientes, así como para mejorar la tolerancia a los estreses bióticos y abióticos, incluido el estrés por salinidad (Alsharif et al., 2020). Los microorganismos, que presentan características y propiedades que favorecen el desarrollo de las plantas, se conocen como Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) (Mus et al., 2016).

Específicamente, las RCPV poseen rasgos específicos que pueden mejorar el crecimiento de la planta mediante mecanismos directos e indirectos (Vejan et al., 2016). Los mecanismos directos mejoran el estado nutricional de las plantas al incrementar el volumen de exploración y funcionalidad de las raíces, la captación de agua, la disponibilidad y absorción de nutrientes y la fisiología de toda la planta (Kumar, 2015). Para lograrlo, se sintetizan hormonas reguladoras de crecimiento, ácidos orgánicos, enzimas, metalóforos, vitaminas y otros metabolitos secundarios (Moreno-Reséndez et al., 2018). Por otro lado, los mecanismos indirectos están involucrados en la protección contra el estrés ocasionado por factores abióticos y bióticos, entre los que destacan la inducción de resistencia a condiciones ambientales adversas (tolerancia a la sequía, acidez, alcalinidad, radiación solar, temperaturas extremas, toxicidad de metales) y a fitopatógenos. Este último factor involucra la activación de la resistencia sistémica inducida, inhibición

de producción de biopelículas, interferencia en la señalización 'quorum sensing', activación de mecanismos de detoxificación de factores de virulencia, y la producción de enzimas/metabolitos involucrados en funciones especializadas (Moreno-Reséndez et al., 2018; Villarreal-Delgado et al., 2018; Navarro-Torre et al., 2023, Glick & Gamalero, 2021).

En el estado de Sonora México, *Parkinsonia aculeata* es una de las especies vegetales más dominantes, la cual se encuentra bien adaptada a condiciones de salinidad, sequía y altas temperaturas (González et al., 2021; Argentel-Martínez et al., 2023, Herrera-Sepúlveda et al., 2023). Estas adaptaciones podrían ser el resultado de la presencia de comunidades bacterianas que, utilizando diferentes mecanismos bioquímicos, favorecen el crecimiento y reproducción de las plantas (Toledo et al., 2022). Teniendo en cuenta este escenario, se realizó la presente investigación, la cual tuvo por objetivo, el aislamiento, caracterización macroscópica y molecular de bacterias cultivables asociadas a la rizósfera de *P. aculeata*, bajo condiciones de salinidad en el semidesierto de Sonora, y evaluar las perspectivas de aplicación para la mitigación del impacto de la salinidad en especies de interés agrícola del noroeste de México. Los resultados de la presente investigación constituyen la base para una futura evaluación de potencialidades biotecnológicas del microbioma de *P. aculeata*, orientado a la promoción de plantas y/o biocontrol de enfermedades en cultivos que se establezcan en ecosistemas frágiles afectados por la salinidad del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo

El estudio se llevó a cabo en el Municipio de San Ignacio Río Muerto, específicamente en la localidad de Bahía de Lobos, abarcando un área de 2 hectáreas con condiciones de salinidad elevada (conductividad eléctrica $CE= 8,6 \text{ dS m}^{-1}$) ($27^{\circ}22'15'' \text{ N}$; $-110^{\circ}25'35'' \text{ O}$). Se recolectaron muestras de suelo a profundidades de 0-50 cm, extrayendo un total de nueve muestras compuestas en puntos distribuidos aleatoriamente para su análisis fisicoquímico (An et al., 2022).

Muestreo y procesamiento de muestras

Se empleó una barrena para evitar la contaminación de las muestras con un diámetro de 3,4 pulgadas y una longitud de 30 cm para la extracción de las muestras. Estas fueron obtenidas en áreas cercanas a plantas de *P. aculeata* con una altura promedio de 1,5-3,0 m. De cada ubicación se tomaron nueve submuestras de suelo, cada una con un peso de 1 kg. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico Ziploc y transportadas a temperatura ambiente al laboratorio para su posterior procesamiento (An et al., 2022) (Figura 1).

Aislamiento y caracterización macroscópica

El aislamiento de microorganismos cultivables de la rizósfera de *P. aculeata* se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Cordero-Ramírez et al. (2012), la cual se describe a continuación. Para el aislamiento y la identificación iniciales, se tomó una submuestra de cada muestra de suelo para preparar una solución acuosa homogeneizada. Para purificar las bacterias se empleará el método de diluciones seriales utilizando medios de cultivo selectivos [Agar de aislamiento de actinomicetos (AIA), medio King’s B y De Man Rogosa y Sharpe (MRS)]. Las colonias bacterianas se revisaron cada 48 horas durante seis días; cada nuevo morfotipo se subcultivó y mantuvo en medio LB. Estas permanecieron en observación durante una semana, con el objetivo de caracterizar macroscópicamente la morfología de las colonias (color, forma, tamaño y consistencia). Las características macroscópicas de las colonias se examinaron mediante microscopía óptica (modelo BH2; Olympus). Finalmente, los microorganismos purificados se criopreservaron con glicerol al 15% a -70 °C.

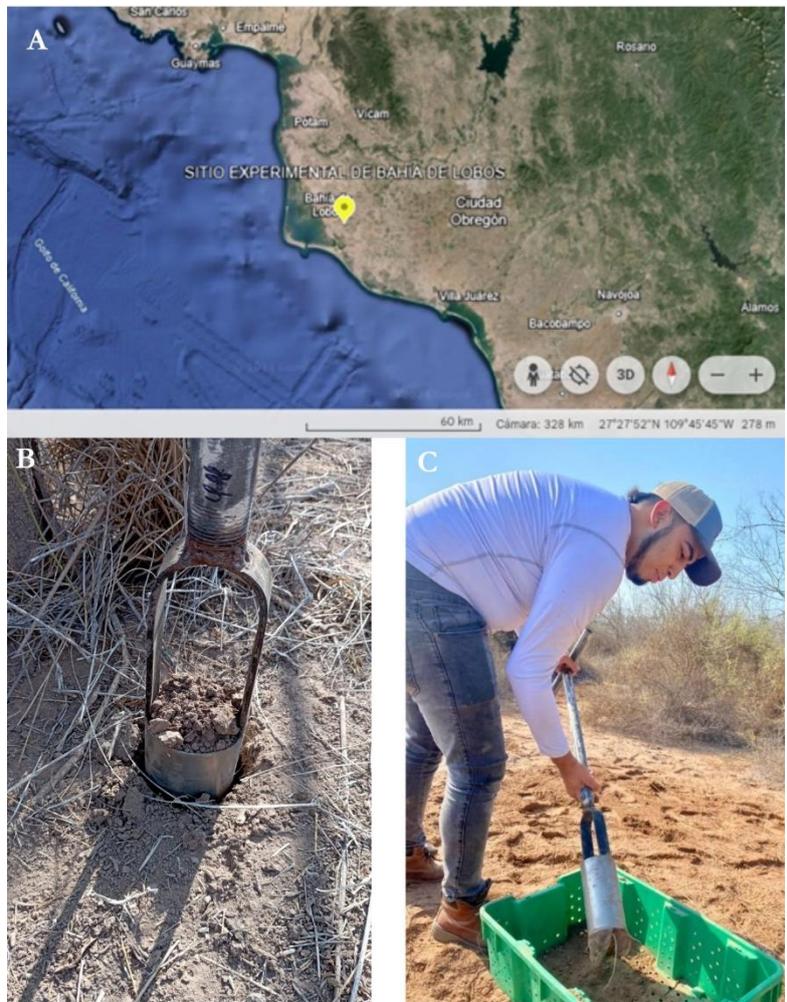


Figura 1. Toma de muestras de suelo rizosférico en el semi-desierto de Sonora. A) Ubicación del sitio experimental en Bahía de Lobos, municipio de San Ignacio Rio muerto. B) toma de muestra con barrena. C) tamizaje y homogenización de la muestra. Fuente: Los autores.

Extracción de ADN, amplificación y secuenciación de los microorganismos cultivables

Partiendo de las cepas purificadas, se realizará la extracción de ADN genómico, con el kit DNeasy® Blood & Tissue Kit (QIAGEN). El ADN genómico se utilizó como molde para la amplificación parcial de la región 16S del ADN ribosomal utilizando los cebadores F2C (5'-AGAGTTT'GATCATGGCTC -3')/ C (5'-ACGGGCGGTGTGTAC -3') (Shi et al., 1997). Fue utilizada las siguientes condiciones de amplificación: desnaturalización inicial a 94 °C durante 4 min; 30 ciclos a 94 °C durante 1 min, 60 °C durante 1 min y 72 °C durante 1,5 min; y una elongación final a 72 °C durante 5 min. La secuenciación del ADN se realizó mediante la plataforma Sanger (Sanger ABI 3730 XL, Applied Biosystem) utilizando el cebador interno U1 (5'-CCAGCAGCCGCGGTAATACG -3') (Lu et al., 2000). Las secuencias de ADN obtenidas se editaron y analizaron utilizando el software FinchTV 1.4.0 de Geospiza, Seattle, WA; y BLAST (NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov), respectivamente. Todas las secuencias se compararon y depositaron en el Genbank del NCBI. Las secuencias del gen 16S rRNA se alinearon con el software Clustal W, posteriormente se establecieron relaciones filogenéticas utilizando el algoritmo de Neighbour-joining empleando el software MEGA 6. Para la construcción del árbol filogenético, se utilizó la secuencia del 16S rRNA de *Pyrococcus abssi* (L19921.1) como grupo externo. La estabilidad de los clados se determinó con un valor de 1000 bootstrap.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron un total de veinte aislamientos bacterianos asociados a la rizósfera de *P. aculeata*, provenientes de Bahía de Lobos. Las características macroscópicas de estas cepas, se presentan en la Tabla 1. Las cepas se identificaron mediante el análisis del gen 16S rRNA y se compararon con los registros disponibles en el GenBank (NCBI). La longitud de las secuencias nucleotídicas varió entre 1295 y 1330 nt. El porcentaje de identidad de las secuencias fue mayor al 99.85% (Tabla 1) (Figura 2). Se logró llegar al nivel de identificación de especie para todas las cepas, encontrando un total de nueve especies, siendo las más frecuentes *Priestia megaterium* y *Priestia aryabhatai* (Figura 3).

Herrera-Sepúlveda et al. (2023), reportaron las características fisicoquímicas del suelo de Bahía de Lobos (pH 8.8, CE 14.6 dSm⁻¹ y PSI 38), clasificándolo como un suelo salino-sódico y de tipo gipsisoles. En el presente estudio se observó que estas características, tienen influencia en la composición de su flora microbiana con la presencia de bacterias cultivables asociadas a la rizósfera de *P. aculeata*. En suelos que no se encuentran sometidos a condiciones de salinidad, se pueden cultivar una mayor diversidad de bacterias, tal es el caso de los estudios realizados por Chandra et al. (2020). Estos autores reportaron el efecto en la diversidad microbiana cultivable de seis especies de plantas (biotipos) bajo diferentes niveles de salinidad, en donde se observó que a niveles de salinidad mayores (CE > 8.0 dS m⁻¹) se presenta una menor diversidad en las poblaciones microbianas, sin embargo, el impacto de la salinidad podía ser más severo dependiendo del biotipo. Los resultados obtenidos en el presente trabajo confirman esta afirmación, si consideramos que la CE del local en estudio tenía valores de 8,6 dS m⁻¹.

Tabla 1. Caracterización macroscópica y molecular de cepas aislada de la rizósfera de *P. aculeata* en condiciones de salinidad.

Cepa	Caracterización macroscópica		Caracterización molecular		
	Morfología de aislados purificados en agar LB+Glucosa (color, forma y tamaño, consistencia)	Numero de acceso en Genbak	Coincidencia más cercana basado en secuencias del gen 16S ARNr		
			Nombre científico	% de identidad	Numero de acceso
BA1	Crema, irregular grande, suave	ON869243	<i>Enterobacter cloacae</i>	99.85	KT261192
BA2-A	Crema, circular grande, suave	ON869244	<i>Bacillus aryabhatai</i>	99.92	MT18418
BA4	Crema, circular mediana, mucoide	ON869245	<i>Priestia megaterium</i>	99.85	MF431767
BA7-B	Crema, circular, mucoide	ON869246	<i>Priestia megaterium</i>	100	JF496300
BA8-A	Crema, suave	ON869247	<i>Sinomonas halotoleran</i>	99	OK605799
BA9	Amarilla, puntiforme, suave	ON869248	<i>Micrococcus luteus</i>	99.92	KM047496
BA10-B	Crema, mucoide	ON869249	<i>Sinomonas halotoleran</i>	98.92	OK605799
BM1	Crema, circular grande, seca	ON869250	<i>Bacillus cereus</i>	100	MT544972
BM2	Crema, circular mediana, suave	ON869251	<i>Priestia megaterium</i>	99.85	KT153598
BM3-A	Crema, circular mediana, suave	ON869252	<i>Priestia endophytica</i>	99.92	KC237279
BM3-B	salmón, puntiforme, suave	ON869253	<i>Kocuria turfanesis</i>	99.69	MG594807
BM4	Crema, circular mediana, suave	ON869254	<i>Priestia megaterium</i>	100	MK318791
BM6-A	Crema circular grande, mucoide	ON869255	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	MT184818
BM6-B	Crema circular mediana, suave	ON869256	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	MT078622
BM6-C	Crema puntiforme, suave	ON869257	<i>Priestia megaterium</i>	100	OM463625
BM7	Crema, circular mediana- borde ondulado, suave	ON869258	<i>Priestia aryabhatai</i>	99.92	JF895478
BM10	Crema, circular grande-borde ondulado, suave	ON869259	<i>Priestia megaterium</i>	100	MK318796
BP5	Crema, circular pequeña, suave	ON869260	<i>Staphylococcus warneri</i>	100	MH198281
BP6	Crema, circular mediana, suave	ON869261	<i>Priestia endophytica</i>	99.85	MT373518
BP9	Crema, circular mediana, suave	ON869262	<i>Priestia endophytica</i>	99.85	MT373518

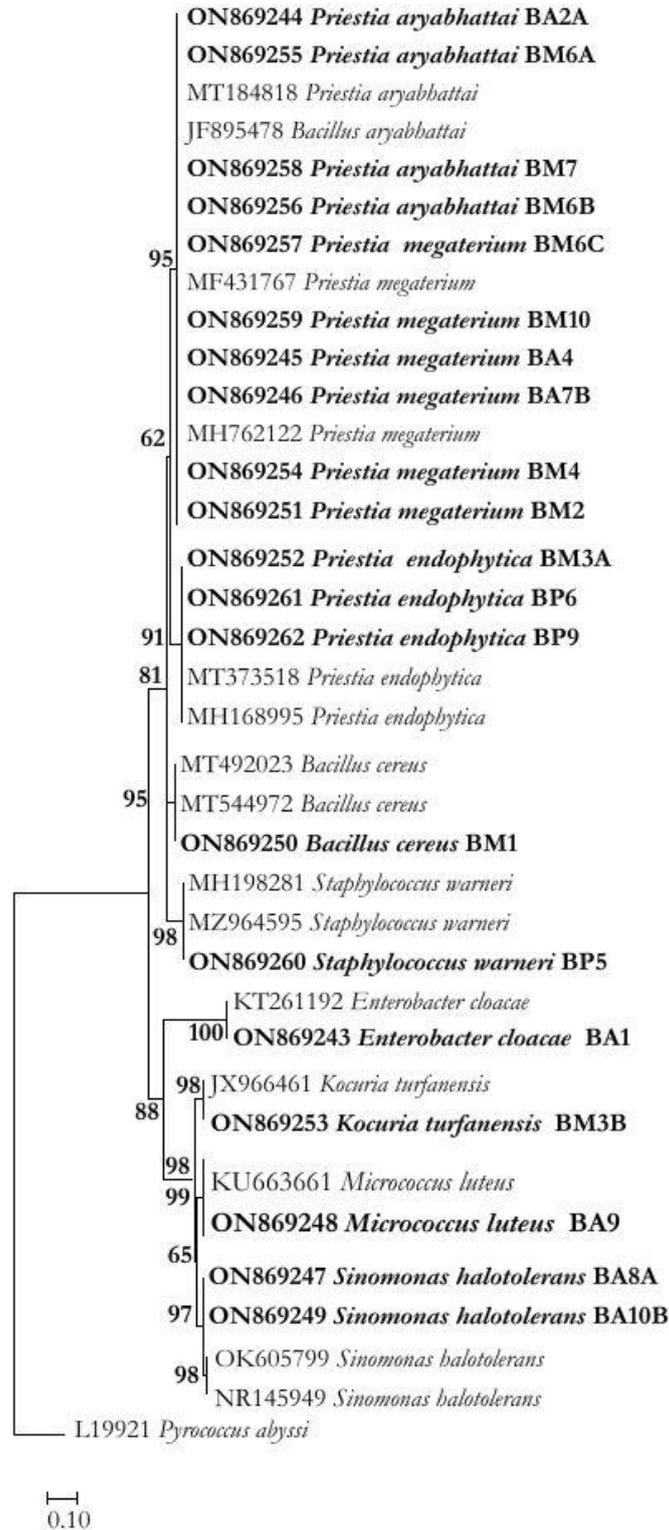


Figura 2. Árbol filogenético obtenido a partir de secuencias de 16S ARNr de cepas asociadas a la rizósfera de *P. aculeata* en el sitio bajo condiciones de salinidad. La construcción del árbol se llevó a cabo utilizando el método de Vecino más cercano (*Neighbor-Joining*). *Pyrococcus abyssi* (L1992.1) se incluyó como grupo externo. Se muestran valores de Bootstrap superiores al 50% (basado en 1000 replicas).

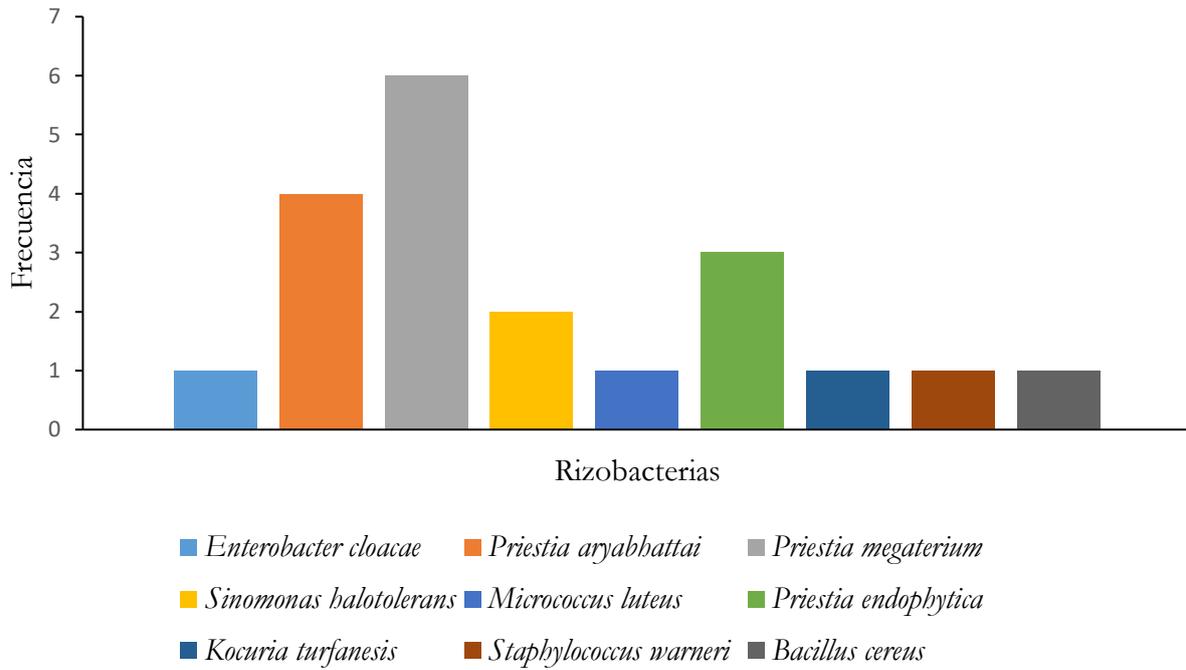


Figura 3. Distribución del número de cepas asociadas a la rizósfera de *P. aculeata* en el sitio experimental de Bahía de Lobos. La contabilización se hizo con base a la secuenciación parcial del gen 16S ARNr.

Ibarra-Villareal et al. (2023) reportaron el efecto de la diversidad de las bacterias cultivables asociadas al cultivo de trigo en el Valle del Yaqui, destacando el impacto de la CE sobre la diversidad bacteriana. Se observó que la mayor diversidad de bacterias cultivables se presentó en suelos con valores de CE de 0.9 y 2.4 dS m⁻¹ y una menor diversidad en valores de CE de 5.2 y 6.4 dS m⁻¹. Además, Abdul Rahman et al. (2021) reportan los efectos negativos del estrés salino en suelos, destacando las alteraciones en las propiedades fisicoquímicas las cuales influyen en la reducción de la actividad microbiana al igual que en su composición.

Entre las cepas aisladas, nueve especies fueron identificadas y todas ellas han sido previamente reportadas como RPCV, exhibiendo varios rasgos de interés tales como actividad antimicrobiana, producción de enzimas, síntesis de hormonas vegetales, solubilización y fijación de elementos, capacidad de tolerar la sal, producción de metabolitos secundarios para aliviar el estrés abiótico, actividades antioxidantes y biorremediación. Específicamente, las especies *S. halotolerans*, *E. cloacae*, *K. turfanensis* y *P. aryabhatai* pueden clasificarse como bacterias halófilas moderadas, debido a su capacidad para crecer bajo 3-15% de NaCl (Goswami et al., 2014; Guo et al., 2015; Ji et al., 2020; Shahid et al., 2022). Estas bacterias están adaptadas a ambientes áridos y pueden sobrevivir a largos periodos de sequía y ejercer un efecto positivo mejorado en las plantas cuando se produce la rehidratación (Etesani & Glick, 2020; Chandra et al., 2021). Por lo tanto, estos microorganismos pueden tener un gran potencial para su uso en la agricultura, ya que se ha informado de que varias bacterias halófilas aumentan la producción de cultivos y protegen a las plantas contra diferentes tipos de estrés abiótico (Pathania et al., 2020). Por lo tanto, los microorganismos asociados a plantas endémicas de zonas áridas constituyen un nicho para aislar

microorganismos con potencial para remediar suelos salinos, y para mejorar el rendimiento de cultivos en suelos salinos (Takur et al., 2022).

Bajo esta premisa, es importante estudiar las comunidades microbianas nativas, incluyendo el aislamiento y cultivo de las mismas, para comprender su papel ecológico en ambientes específicos como los suelos salinos y secos y su implicación en el rendimiento de las plantas (Verma et al., 2013) y, en gran medida, como paso esencial para desarrollar capacidades biotecnológicas novedosas e innovadoras capaces de cambiar la realidad de varios ecosistemas que manifiestan estrés hoy con capacidades de biorremediación con el uso de estas bacterias caracterizadas.

CONCLUSIONES

Se obtuvo un total de 20 aislados bacterianos de la rizósfera de *P. aculeata* en condiciones de suelo salino, los cuales fueron identificados en base a secuencias parciales del gen parcial 16S rRNA, estas pertenecen a nueve especies que previamente han sido reportadas como RPCV. Es necesario profundizar con la caracterización metabólica de estas bacterias ya que, debido a su adaptación natural a condiciones salinas, es probable que sean candidatas ideales para su uso potencial en la formulación de inoculantes bacteriano. Una vez obtenidos inoculantes podrían mejorar la fertilidad del suelo, aumentar la tolerancia de las plantas a la salinidad, mejorando la productividad de los cultivos como parte de la seguridad alimentaria, propiciando prácticas de biofertilización amigables con el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdul Rahman, N. S. N., Abdul Hamid, N. W., & Nadarajah, K. (2021). Effects of Abiotic Stress on Soil Microbiome. *International Journal of Molecular Science*, 22, 9036.
- Alsharif, W., Saad, M. M., & Hirt, H. (2020). Desert microbes for boosting sustainable agriculture in extreme environments. *Frontiers in Microbiology*, 11, 496411.
- An, F. et al. (2022). Succession of soil bacterial community along a 46-year chronosequence artificial revegetation in an arid oasis-desert ecotone. *Science of The Total Environment*, 814, 152496.
- Argentel-Martínez, L. et al. (2023). Dinámica del desarrollo foliar de *Parkinsonia aculeata* L., Sp. Pl. ante altas temperaturas, la sequía y la salinidad del semidesierto de Sonora. *Ciência Florestal*, 33, e70584.
- Bui, E. N. (2017). Causes of soil salinization, sodification, and alkalization. In *Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science*. Oxford University Press: Oxford, UK.
- Chandra, P. et al. (2021). Strategies to Mitigate the Adverse Effect of Drought Stress on Crop Plants—Influences of Soil Bacteria: A Review. *Pedosphere*, 31(3), 496–509.
- Chandra, P. et al. (2020). Culturable microbial diversity in the rhizosphere of different biotypes under variable salinity. *Tropical Ecology*, 61, 291-300.

- Cordero-Ramírez, J. D. et al. (2012). Microorganismos asociados a la rizosfera de jitomate en un agroecosistema del valle de Guasave, Sinaloa, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 83(3), 712-730.
- Etesami, H., & Glick, B.R. (2020). Halotolerant plant growth–promoting bacteria: Prospects for alleviating salinity stress in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104124.
- Glick, B. R., Gamalero, E. (2021). Recent developments in the study of plant microbiomes. *Microorganisms*, 9(7), 1533.
- González, H. H. S. et al. (2021). Salinity effects on water potential and the normalized difference vegetation index in four species of a saline semi-arid ecosystem. *PeerJ*, 9, e12297.
- González-Trejo, N. et al. (2019). Tecnologías de remediación para suelos salinos.: Un caso de estudio: México. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 10(1), 13-26.
- Goswami, D. et al. (2014). Delineating *Kocuria turfanaensis* 2M4 as a credible PGPR: a novel IAA-producing bacteria isolated from saline desert. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 566-576.
- Guo, Q.Q. et al. (2015). *Sinomonas halotolerans* sp. nov., an actinobacterium isolated from a soil sample. *Antonie van Leeuwenhoek*, 108, 887–895.
- Herrera-Sepúlveda, A. et al. (2023). First report of *Sinomonas halotolerans* from *Parkinsonia aculeata* rhizosphere. *Biologia*, 79(2), 621-627.
- Ibarra-Villarreal, A. L. et al. (2023). Soil salinity shifts cultivable microbial communities of wheat (*Triticum turgidum* subsp. durum) rhizosphere in the Yaqui valley, Mexico. *Agrociencia*. 57(5)1-20.
- Ji, C. (2020). Effects of *Enterobacter cloacae* HG-1 on the nitrogen-fixing community structure of wheat rhizosphere soil and on salt tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1094.
- Kumar, A. (2015). Does a plant growth-promoting rhizobacteria enhance agricultural sustainability? *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 9(1):715-724.
- Lu, J. J. et al. (2000). Use of PCR with universal primers and restriction endonuclease digestions for detection and identification of common bacterial pathogens in cerebrospinal fluid. *Journal of clinical microbiology*, 38(6):2076-80.
- Moreno-Reséndez, A. et al. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1):68-83.
- Mus, F. et al. (2016). Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes. *Applied and environmental microbiology*, 82(13), 3698-3710.
- Navarro-Torre, S. et al. (2023). Sustainable agricultural management of saline soils in arid and semi-arid Mediterranean regions through halophytes, microbial and soil-based technologies. *Environmental and Experimental Botany*, 105397.
- Ojeda-Barrios, D. et al. (2021). Causes, effects, and management of salinity problems in pecan production in North Mexico. *Saline and Alkaline Soils in Latin America: Natural Resources, Management and Productive Alternatives*, 177-187.

- Omuto, C. T. et al. (2020). Mapping of Salt-affected Soils: Technical Manual. FAO, Rome, Italy. 112p
- Pathania, P. et al. (2020). Role of plant growth-promoting bacteria in sustainable agriculture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 30, 101842.
- Ramawat, K. G. (2009). *Desert plants: biology and biotechnology*. Springer Science & Business Media. Springer, Berlin. 503p
- Richards, L. A. (1954). Diagnosis and improvements of saline and alkali soils. Agriculture Handbook No. 60. USDA, Washington, EUA, 159p.
- Shahid, M. et al. (2022). Stress-tolerant endophytic isolate *Priestia aryabhatai* BPR-9 modulates physio-biochemical mechanisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) for enhanced salt tolerance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(17), 10883.
- Shi, T. et al. (1997). Characterization of viable bacteria from Siberian permafrost by 16S rDNA sequencing. *Microbial ecology*, 33, 169-179.
- Thakur, N., Singh, S. P., & Zhang, C. (2022). Microorganisms under extreme environments and their applications. *Current Research in Microbial Science*, 3: 100141.
- Toledo, S. et al. (2022). Structure and function of soil microbial communities in fertile islands in austral drylands. *Austral Ecology*, 47(3), 663-673.
- Vejan, P. et al. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. *Molecules*, 21(5), 573.
- Verma, J. P. et al. (2013). Effect of indigenous Mesorhizobium spp. and plant growth promoting rhizobacteria on yields and nutrients uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under sustainable agriculture. *Ecological Engineering*, 51, 282-286.
- Villarreal-Delgado, M. F. et al. (2018). The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in agricultural biosecurity. *Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1):95-130.

Microorganismos promotores del crecimiento vegetal y yeso agrícola en el cultivo de uva industrial variedad *Cabernet sauvignon*, Valle del Yaqui

Recibido en: 08/05/2024

Aprobado en: 14/05/2024

 10.46420/9786585756365cap2

Luis Enrique Estrella-Osuna 

Marco Antonio Gutiérrez-Coronado 

RESUMEN

El cultivo de uva es uno de los más importantes en México, con alto impacto económico y gran demanda de producción. Debido a su consumo diversificado, con tres principales destinos (uva de mesa, uva industrial y uva pasa), se caracteriza por su alto valor económico. La inoculación de las plantas con microorganismos promotores de crecimiento vegetal (MPCV) es una alternativa al uso de agroquímicos requeridos en la producción. Así mismo, se han utilizado enmiendas para el suelo, como el yeso agrícola, que permiten mejorar las características del suelo. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de MPCV (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma harzianum*) en combinación con yeso agrícola, aplicados al suelo en plantas de uva de la variedad *Cabernet sauvignon*. Se realizó en cuatro tratamientos: T1: Testigo (sin tratamiento), T2 Yeso agrícola, T3: *Trichoderma harzianum* + yeso agrícola, T4: consorcio microbiano (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma harzianum*) + yeso agrícola, bajo un diseño experimental completamente al azar. Las variables analizadas fueron: clorofila, análisis nutrimental de tejido foliar, número y peso de racimos, bayas por racimo, rendimiento del cultivo, grados Brix, acidez titulable y firmeza del fruto. La aplicación de los tratamientos aumentó un 16.58% (T3) y 35% (T4) en el rendimiento para la uva industrial.

INTRODUCCIÓN

El fruto de la vid (*Vitis vinifera* L.) es considerado uno de los principales frutales en el sector agrícola mexicano, por su alto valor comercial y por ser uno de los principales frutos de exportación.

En México, el Estado con mayor producción de uva industrial es Zacatecas con un volumen de 29, 854 toneladas, mientras que el Estado de Sonora se posiciona en el séptimo lugar con un volumen de producción de 1,812 toneladas. El destino de esta fruta es principalmente la elaboración de vinos de mesa y otros productos industriales (SIAP, 2023).

Existen diversas variedades de uva producidas en México para uso industrial. Entre las principales variedades de uva para vino se encuentran *Cabernet Sauvignon*, *Merlot*, *Syrah* y *Chardonnay*, que destacan por su gama aromática que le dan cualidades del vino (Vázquez et al., 2022).

Para satisfacer las necesidades de producción se requiere de grandes cantidades de insumos agroquímicos e intensivas prácticas agrícolas no sostenibles, por lo que la actividad microbiana del suelo ha sido afectada. El desequilibrio de estas comunidades microbianas provoca procesos que limitan su capacidad de llevar a cabo sus principales servicios ecosistémicos, como la producción de biomasa y el reciclaje de nutrientes, reduciendo así, la calidad y rendimiento de los cultivos (Cruz et al., 2021).

La aplicación de inoculantes a base de microorganismos es una alternativa que favorece la conservación del medio ambiente y contribuye a la calidad del suelo. Estos microorganismos son un grupo de especies que interactúan en la rizosfera con las raíces de las plantas, favoreciendo la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de patógenos (Blake et al., 2021).

También, se han utilizados enmiendas para el suelo, como lo es el sulfato de calcio di-hidratado ($\text{CaSO}_4+2\text{H}_2\text{O}$), conocido comúnmente como yeso agrícola, cuya aplicación mejora las propiedades del suelo al desplazar el sodio presente en él, favorece su estructura y disponibilidad de los nutrientes, aumentando la producción de los cultivos (Zenteno et al., 2020).

El objetivo de presente estudio fue evaluar el efecto de microorganismos promotores del crecimiento vegetal (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma harzianum*) y yeso agrícola aplicados al suelo en cultivo de uva industrial de la variedad *Cabernet sauvignon*, a través de análisis nutrimentales, fisiológicos, de rendimiento y calidad postcosecha para incrementar su productividad.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en un lote experimental de un cultivo de vid de variedad *Cabernet sauvignon*, de seis años de edad, dentro de la parcela 98 Z-1 P 1/1 del ejido Esperanza, ubicado en Municipio de Cajeme, Sonora, México. En un suelo franco-areno-arcilloso, con un pH de 7.6 y un porcentaje de materia orgánica de 1.26. El experimento se desarrolló durante el ciclo primavera-verano 2023. El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro tratamientos y diez repeticiones por tratamiento (plantas). Los tratamientos fueron: T1 testigo (sin tratamiento); T2 yeso agrícola; T3 *Trichoderma harzianum* + yeso agrícola; T4 consorcio microbiano (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma harzianum*) + yeso agrícola. Los microorganismos se inocularon a una concentración de 10^8 UFC mL^{-1} m^{-2} de suelo. Mientras que el yeso agrícola fue a una concentración de 40 kg ha^{-1} de calcio. Las aplicaciones de yeso agrícola con MPCV se realizaron cada 15 días, a partir de la brotación, con un total de ocho aplicaciones en el ciclo.

Durante el ciclo completo de la uva se evaluaron variables como clorofila, mediante el Soil-Plant Analysis Development (Spad 502 Konica Minolta, Osaka, Japón), para lo cual se realizaron lecturas semanales a partir de la primera aplicación de tratamientos, entre las 11 y 14 horas del día, realizando el

promedio de tres mediciones en tres partes diferentes de una hoja fisiológicamente madura, reportando como resultado unidades SPAD.



Figura 1. Muestra compuesta de tejido vegetal en plantas de uva industrial

Para el análisis nutrimental de tejido foliar, se determinaron la concentración de macro (N, K, P, Ca y Mg) y micronutrientes (Fe, Cu, Zn y Mn) con una muestra compuesta de tejido vegetal para cada tratamiento (Figura 1), colectadas durante las etapas de floración y envero (Figura 2A). El análisis se realizó mediante los métodos de Alcántar y Sandoval (1999), en un espectrofotómetro DR3900 HACH.



Figura 2. Etapas fenológicas de la vid: A. Etapa de envero y B. Etapa de vendimia (maduración)

Para las variables de rendimiento, se contabilizaron el número total de racimos por planta (Figura 2B) y número de bayas. El peso por racimo se determinó en una báscula digital, obteniendo los resultados en gramos (g), extrapolándose toneladas ha^{-1} para obtener el rendimiento total del cultivo por hectárea.

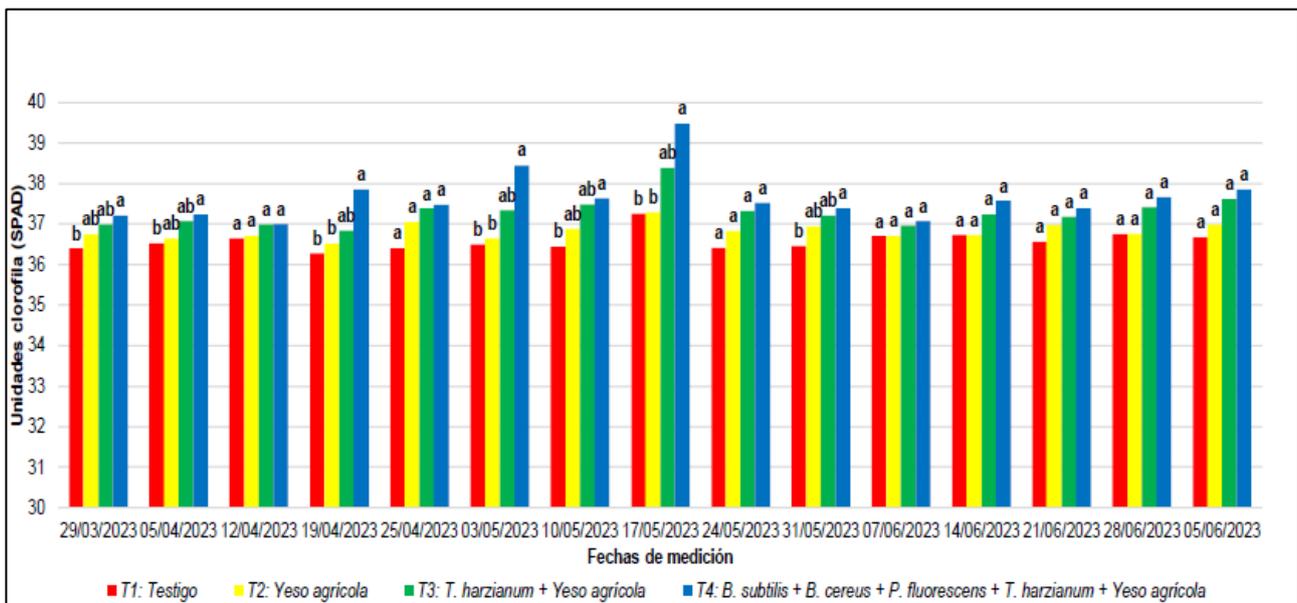
Dentro de las variables postcosecha, se evaluaron grados Brix, mediante de un Refractómetro modelo RHB-32. La acidez titulable se determinó a partir del zumo obtenido tras el triturado de las

muestras del fruto a través de la titulación de NaOH 0.1N, mediante el empleo de fenolftaleína como indicador. Mientras que la firmeza del fruto se midió con un penetrómetro (FT-10 Wagner-Instruments).

Los datos fueron procesados y analizados mediante un análisis de varianza ANOVA y la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($p < 0.05$), en el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 22.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observa que la inoculación con MPCV y yeso agrícola aumentó la concentración de clorofila en todas de las semanas de medición. Los tratamientos T3 y T4 presentaron la mayor concentración con respecto a T1 y T2. (Figura 3). El tratamiento del consorcio de todos los microorganismos en combinación con yeso agrícola (T4) presentó diferencias estadísticamente significativas en comparación con el testigo, al aumentar 2.23, 1.94, 4.33, 5.34, 3.27, 5.99, 2.55% para las semanas 1, 2, 4, 6, 7, 8, y 10.



Barras con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 3. Medición semanal de clorofila en plantas de uva industrial, con el efecto de la aplicación al suelo de MPCV y yeso agrícola

La concentración de clorofila está directamente relacionada con el contenido de N en la planta. Este elemento es esencial en el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que forma parte de las proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos y clorofila (Mendoza-Tafolla et al., 2022). En un estudio realizado por Rojas-Sánchez et al. (2022) obtuvieron un aumento en la concentración de clorofila con los compuestos producidos por la bacteria *Bacillus subtilis* en tres cultivares de zarzamora. Por su parte, Lemus-Soriano et al. (2021) en un experimento en cultivo de aguacate, obtuvieron los mayores resultados en concentración de clorofila al utilizar un consorcio compuesto con *T. harzianum* y *B. subtilis*.

La inoculación con MPCV aumentó considerablemente los macros y micronutrientes en las etapas de floración y envero, siendo T3 y T4 los tratamientos con mayor concentración nutrimental

(Cuadro 1). El tratamiento compuesto por los cuatro microorganismos en combinación con yeso agrícola (T4) obtuvo los mayores resultados de concentración en la mayoría de los nutrimentos, al obtener un aumento de 5.38% (N), 18.46% (P), 46.66% (K), 15.55% (Ca), 7.55% (Mg), 82.56% (Fe), 25.00% (Cu), 146.66% (Zn) y 55.55% (Mn) en comparación con T1. Así mismo, obtuvo un aumento en la etapa de envero con 14.44% (N), 33.96% (P), 12.94% (K), 22.75% (Ca), 25.00% (Mg), 38.88% (Fe), 7.69% (Cu), 21.43% (Zn) y 38.88% (Mn) en comparación con el testigo.

Cuadro 1. Concentración nutrimental en tejido foliar de uva industrial, con el efecto de la aplicación al suelo de MPCV y yeso agrícola

Etapas del cultivo	Tratamientos	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn
		%					ppm			
Floración	T1: Testigo	1.86	0.65	1.05	1.80	0.53	86	12.0	15.0	18.0
	T2: Yeso agrícola	1.92	0.62	1.20	1.95	0.57	99	14.0	22.0	16.0
	T3: <i>T. harzianum</i> + Yeso agrícola	2.16	0.74	1.26	1.96	0.60	144	14.0	35.0	25.0
	T4: <i>B. subtilis</i> + <i>B. cereus</i> + <i>P. fluorescens</i> + <i>T. harzianum</i> + Yeso agrícola	1.96	0.77	1.54	2.08	0.57	157	15.0	37.0	28.0
Envero	T1: Testigo	1.80	0.53	0.85	1.67	0.48	90	13.0	14.0	18.0
	T2: Yeso agrícola	2.01	0.60	0.95	1.98	0.56	88	12.5	18.0	18.0
	T3: <i>T. harzianum</i> + Yeso agrícola	2.05	0.65	0.92	2.01	0.55	117	14.0	18.0	22.0
	T4: <i>B. subtilis</i> + <i>B. cereus</i> + <i>P. fluorescens</i> + <i>T. harzianum</i> + Yeso agrícola	2.06	0.71	0.96	2.05	0.60	125	14.0	17.0	25.0
	Referencia*	1.7-3	0.15-0.5	1.5-2	1-3	0.3-1.5	40-300	5-25	25-100	30-150

* Jones et al. (1991)

En el número de racimos no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos, sin embargo, se puede observar que se presentó una tendencia de incremento con la aplicación de los tratamientos, siendo los tratamientos T3 y T4 los que presentaron la mayor cantidad de racimos (Cuadro 2). Para una producción de uva de calidad se requiere de un manejo en la producción denominado raleo, el cual implica dejar un cierto número de racimos y eliminar el resto, por lo que un exceso de racimo no es el objetivo en la producción de uva, ya que puede comprometer la calidad. Se han realizado una gran cantidad de estudios donde la inoculación de estos microorganismos aumenta el número de frutos en diversos cultivos, tal es el caso de Gallegos-Morales et al. (2022) que obtuvieron un aumento del 48% en frutos con la inoculación de *T. harzianum* en cultivo de Chile.

La aplicación de tratamientos mostró un aumento en el número de bayas por racimo, aumentando en un 4.6, 9.2 y 12.6% para T2, T3 y T4 respectivamente, en comparación con el testigo (Cuadro 2). En un estudio realizado por Yuste et al. (2023) evaluaron la producción, desarrollo vegetativo y calidad de uva por efecto de estrés hídrico durante tres años, obtuvieron un valor de número de bayas de 86 a 95

bayas por racimo para la variedad *Cabernet Sauvignon*, lo que coincide con los datos obtenidos en este estudio.

Para el peso del racimo no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, se puede observar que las plantas tratadas tienen una tendencia a incrementar (Cuadro 2). Los valores de peso oscilaron entre los 95 a 105 g, lo cual concuerda con los valores de peso de racimo en un estudio con distintos volúmenes de riego en Baja California, los cuales obtuvieron pesos de 96 a 110 g en la variedad *Cabernet Sauvignon* (Valenzuela-Solano et al., 2023).

Un estudio realizado por Chen et al. (2022) evaluaron el efecto promotor de crecimiento de la inoculación de un cultivo de vid con una bacteria del género *Bacillus*, obteniendo que las plantas tratadas aumentaron significativamente el peso de la uva en comparación con las plantas no tratadas.

Del mismo modo, se realizó un estudio en donde se evaluaron tres concentraciones de un biofertilizante a base de *Pseudomonas* en un cultivo de vid, obteniendo como resultado un favorable crecimiento en la uva, ya que aumentó significativamente el peso y tamaño, siendo 17.2% mayor el peso de la baya en plantas tratada en comparación con el testigo (Lu et al., 2020).

La aplicación de los tratamientos aumentó el rendimiento del cultivo, siendo T4 quien mostró diferencia estadísticamente significativa con T1. Este incremento fue de 8.95, 16.58 y 35% para T2, T3 y T4 respectivamente en comparación con T1 (Cuadro 2).

El valor de grados Brix no presentó diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos evaluados, cuyos valores oscilaron de entre 19.60 a 21.50 (Cuadro 3). Este resultado coincide con los reportados por Flórez y Montes (2023) que al evaluar el efecto que tiene la aplicación de bacterias en el cultivo de fresa no obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, los tratamientos aplicados sí tuvieron un aumento numérico en la concentración de grados Brix.

Por su parte, Flores-Breceda et al. (2022) determinaron como rango de aceptación para la cosecha de uvas para la producción de vino de entre 21° y 25° Brix, quienes en un experimento obtuvieron concentraciones de grados Brix de 19.7 a 23.1 para la variedad *Cabernet Sauvignon*.

Cuadro 2. Variables de rendimiento en uva industrial, con el efecto de la aplicación al suelo de MPCV y yeso agrícola

Tratamientos	Número de racimos	Peso del racimo (g)	Bayas por racimo	Rendimiento (Ton/ha)
T1: Testigo	18.00 a	95.00 a	87 b	3.80 b
T2: Yeso agrícola	19.00 a	98.00 a	91 ab	4.14 ab
T3: <i>T. harzianum</i> + Yeso agrícola	20.00 a	99.75 a	95 ab	4.43 ab
T4: <i>B. subtilis</i> + <i>B. cereus</i> + <i>P. fluorescens</i> + <i>T. harzianum</i> + Yeso agrícola	21.50 a	105.00 a	98 a	5.13 a

Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05).

En cuanto a la acidez titulable, los rangos oscilaron en 0.93 a 1.01% de acidez sin presentar diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 3). Los datos coinciden con el estudio realizado por Sánchez-Monfort et al. (2020) quienes evaluaron parámetros de madurez en diferentes variedades de uva para la elaboración de vino, obteniendo como resultado una acidez de entre los 0.5 a 1.02%. Así mismo, se desarrolló un estudio en diferentes variedades de uva, en el cual la variedad *Cabernet Sauvignon* obtuvo un resultado de acidez titulable de 0.38 a 1.4% (Schneider et al., 2020). En la firmeza del fruto no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, se obtuvo un aumento de 7.98, 7.36 y 2.45% para los tratamientos T2, T3 y T4 respectivamente en comparación con el T1 (Cuadro 3). La firmeza del fruto es una característica que define su calidad (Escorcia-Luna *et al.*, 2020). Se observa que los tratamientos T2, T3 y T4 son los que tienen un mayor valor numérico, a pesar de no presentar diferencias estadísticamente significativas. Esta firmeza puede estar asociado al contenido de calcio, ya que los tratamientos T2, T3 y T4 son los que presentan la mayor concentración de este macroelemento. En las células vegetales el calcio cumple diversas funciones, entre ellas, la parte estructural, manteniendo la integridad de las membranas de la pared celular (Fischer et al., 2021).

Cuadro 3. Variables de calidad postcosecha en uva industrial, con el efecto de la aplicación al suelo de MPCV y yeso agrícola

Tratamientos	Grados Brix (SST)	Acidez titulable (AT) (%)	Relación SST/AT	Firmeza (Kgf)
T1: Testigo	20.30 a	1.00 a	16.02 a	3.26 a
T2: Yeso agrícola	19.60 a	1.01 a	15.91 a	3.52 a
T3: <i>T. harzianum</i> + Yeso agrícola	20.50 a	0.95 a	17.97 a	3.50 a
T4: <i>B. subtilis</i> + <i>B. cereus</i> + <i>P. fluorescens</i> + <i>T. harzianum</i> + Yeso agrícola	21.50 a	0.93 a	17.78 a	3.34 a

Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

La inoculación con MPCV y yeso agrícola en el cultivo de uva de uva industrial incrementa el contenido nutrimental de tejido foliar en las etapas de floración y envero del cultivo. Además, favorece significativamente las variables de clorofila, número de bayas por racimo y rendimiento total del cultivo. Por su parte, las variables de calidad postcosecha no presentaron un efecto significativo.

BIBLIOGRAFÍA

Alcántar, G., & Sandoval, M. (1999). Manual de análisis químico de tejido vegetal. Sociedad Mexicana de La Ciencia Del Suelo, A.C. Chapingo, México, 10, 156.

- Blake, C., Christensen, M., & Kovács, Á. (2021). Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *34*(1), 15-25. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0225-CR>
- Chen, X., Yang, F., Bai, C., Shi, Q., Hu, S., Tang, X., & Ding, H. (2022). *Bacillus velezensis* Strain GUMT319 Reshapes Soil Microbiome Biodiversity and Increases Grape Yields. *Biology*, *11*(10), 1486. <https://doi.org/10.3390/biology11101486>
- Cruz, C., Zelaya, L., Sandoval, G., De los Santos, S., Rojas, E., Chávez, I. F., & Ramirez, S. R. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *12*(5), 899–913. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2905>
- Escorcia-Luna, L. A., Bugarín-Montoya, R., Luna-Esquivel, G., Alejo-Santiago, G., Rosete, C. R. J., Calderón-Zavala, G., & Sánchez-García, P. (2020). Concentración de K⁺, Ca²⁺ y NH₄ en la producción y calidad del fruto y brotación vegetativa de cuatro cultivares de fresa. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, *23*, 23.
- Fischer, G., Miranda, D., Magnitskiy, S., Balaguera-López, H. E., & Molano, Z. (2021). Avances en el cultivo de las berries en el trópico. *Avances en el cultivo de las berries en el trópico*. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas. <https://doi.org/10.17584/IBerries>
- Flores-Breceda, H., Luna-Maldonado, A. I., del Carmen Ojeda-Zacarias, M., Rodríguez-Fuentes, H., Vidales-Contreras, J. A., & Rodríguez-Romero, B. A. (2022). Modelación de la dormancia invernal de un viñedo en Linares, Nuevo León. *Revista Agraria*, (1), 31-31.
- Florez, E., y Montes, E. (2023). Evaluación del efecto en la producción y calidad que tiene la aplicación de bacterias en el cultivo de fresa (*Fragaria sp.*) bajo dos sistemas de producción.
- Gallegos-Morales, G., Espinoza-Ahumada, C. A., Figueroa-Reyes, J., Méndez-Aguilar, R., Rodríguez-Guerra, R., Salas-Gómez, A. L., & Peña-Ramos, F. M. (2022). Compatibilidad de especies de *Trichoderma* en la producción y biocontrol de marchitez del chile. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, *9*(2).
- Jones, J., Wolf, B., & Mills, H. A. (1991). *Plant analysis handbook. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Micro-Macro Publishing, Inc.
- Lemus-Soriano, B. A., Venegas-González, E., & Pérez-López, M. A. (2021). Efecto de bioestimulantes radiculares sobre el crecimiento en plantas de aguacate. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *12*(6), 1139-1144. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i6.2725>
- Lu, H., Wu, Z., Wang, W., Xu, X., & Liu, X. (2020). Rs-198 liquid biofertilizers affect microbial community diversity and enzyme activities and promote *Vitis vinifera* L. growth. *BioMed Research International*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8321462>
- Mendoza-Tafolla, R., López, J., Capurata, E., AliaTejagal, I., Sánchez, G., Torres, V., & Bárcenas, T. (2022). Estimación de la concentración de clorofila, nitrógeno y biomasa en arúgula (*ErUCA sativa mill.*) mediante mediciones portátiles no destructivas. *Bioagro*, *34*(2), 151-162.

- Rojas-Sánchez, B., Santoyo, G., Delgado-Valerio, P., & del Carmen Rocha-Granados, M. (2022). Endophytic *Bacillus spp.* differentially promotes growth of three blackberry varieties. *Bioagro*, 34(2), 99-110.
- Sánchez-Monfort, M., Gracia, P., Guasch, E., López-Vicente, M., & Gogorcena Aoiz, Y. (2020). Aptitud enológica de variedades de vid cultivadas en zonas de montaña.
- Schneider, F., Gleisner, L., Felipe, V., Ramos, P., & Leidy, L. (2020). *Caracterización de variables físico-químicas de bayas de tres variedades tintas de Vitis vinifera L. durante su maduración* (Doctoral dissertation, Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía).
- SIAP (2023). *Panorama Agroalimentario 2023*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
- Valenzuela-Solano, C., Díaz, G. M., Moreno, V. M. R., & Hernández-Martínez, R. (2023). Efectos de tres técnicas de riego sobre los rendimientos y eficiencia en el uso del agua por la vid (*Vitis vinifera* L.) En el valle de Guadalupe, Baja California. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 6(3).
- Vázquez, E. A., Borrego, P. N., & Herrera, G. A. (2022). *Capítulo 8. Propuesta tecnológica para aprovechamiento de subproductos de la industria vitivinícola*. La industria vitivinícola mexicana en el siglo xxi: retos económicos, ambientales y sociales.
- Yuste, J., Vicente, A., & Martínez-Porro, D. (2023). Rehidratación según el nivel de estrés del cv. Cabernet Sauvignon en el valle del río Duero: efectos en producción, desarrollo vegetativo y calidad de uva. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 56, p. 01024). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235601024>.
- Zenteno, I. Q., Gutiérrez Rodríguez, ; Edgar, Demis, & Foronda, A. (2020). Aplicación de yeso agrícola y enmiendas orgánicas para la remediación de suelos salino-sódicos. *Revista de Agricultura (Bolivia)*, 62, 80–90.

Efecto de pulsos ultrasónicos en la extracción de compuestos antioxidantes y antifúngicos en *Euphorbia prostrata* (golondrina)

Recibido en: 19/04/2024

Aprobado en: 10/06/2024

 10.46420/9786585756365cap3

Francisco Cadena Cadena¹ 

Dulce Alondra Cuevas Acuña² 

Ofelda Peñuelas-Rubio¹ 

Leandris ArgenteL-Martínez¹ 

Mayra Gisela Islas Cruz¹

Frank Denis Torres-Huaco³

Joe Luis Arias Moscoso^{1*}

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto de los pulsos ultrasónicos en la extracción de compuestos bioactivos de *Euphorbia prostrata* (Golondrina). Se extrajo la fracción lipídica de la planta para determinar su capacidad antioxidante y antifúngica. La extracción se realizó mediante arrastre de vapor y maceración con solventes, con y sin la asistencia de pulsos ultrasónicos. Los resultados obtenidos mostraron mayor rendimiento en ambos métodos cuando se utilizó los pulsos ultrasónicos como asistente de extracción. Además, la evaluación de la capacidad antifúngica reveló un mayor porcentaje de inhibición frente al hongo *Saprolegnia*, permitiendo un crecimiento del 30% y 51% a los 10 días cuando se utilizó el extracto de golondrina obtenido por arrastre de vapor y maceración con la asistencia de pulsos ultrasónicos, respectivamente. Congruentemente, la capacidad antioxidante fue más alta en los métodos de extracción asistidos por pulsos ultrasónicos, destacando la fracción lipídica obtenida mediante arrastre por vapor la que obtuvo el valor más alto.

INTRODUCCIÓN

Euphorbia Prostrata (Golondrina), es una especie fanerógama perteneciente a la familia de las *Euforbiáceas*. Es endémica desde Estados Unidos hasta Sudamérica siendo una hierba anual cuyos tallos delgados postergados alcanzan hasta unos 20 centímetros de largo, a veces de color púrpura.

¹ Departamento de Ingeniería, Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui, Bacúm 85276, México.

² Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Sonora, Ciudad Obregón 85040, México.

³ Coordinación de Investigación, Universidad Continental, Avenida los Incas s/n, Arequipa, Perú.

*Autor correspondiente: jarias.moscoso@itvy.edu.mx

Las hojas de forma oval, de hasta un centímetro de largo con bordes finamente dentados (Rojas et al., 2010).

Estudios recientes han demostrado que los compuestos bioactivos presentes en extractos de *E. prostrata* (Golondrina) tiene propiedades antioxidantes (Valenzuela-Soto et al., 2019). Se ha comprobado también que extractos de la planta ejercen una acción depresora del sistema nervioso central, inhibidora de la actividad espontánea, inmuno estimulante; por otro lado, los extractos acuosos han mostrado capacidad antibacterial (Casado Villaverde, 2018; Usaquén Ramírez & Zafra Agudelo, 2018).

La destilación por arrastre de vapor de agua es el método más común para la obtención o extracción de compuestos bioactivos, específicamente de las fracciones lipídicas o aceites esenciales, consiste en un proceso de separación por el cual el vapor de agua vaporiza los compuestos volátiles de la materia vegetal, este procedimiento consiste en el paso de flujo de vapor a través de la materia prima de este modo arrastra consigo los aceites esenciales, posteriormente estos vapores se condensan dando lugar a la destilación líquida formada por dos fases inmiscibles, estas dos fases se pueden separar por medio de decantación gracias a las distintas densidades (Casado-Villaverde, 2018). Otro de los métodos de extracción es por solventes o maceración consiste en exponer a la materia prima en contacto con el solvente basándose en la difusión de la fracción lipídica de la planta y el solvente a través de la materia prima (Pérez-Pezo, 2000; Paucarchuco-Soto et al., 2023).

Los pulsos ultrasónicos son ondas acústicas cuya frecuencia está por encima de la capacidad de audición del oído humano; esas ondas viajan en una frecuencia superior a la percibida por el oído humano menores a los 16kHz y viajan por la superficie y del material a una velocidad determinada dependiendo de la naturaleza de este (Villamiel et al, 2017). Por lo que tienen distintas aplicaciones entre las cuales destaca su uso en ciencias de alimentos en donde la onda de ultrasonido generado provoca ondas mecánicas que originan unos esfuerzos cortantes muy elevados lo cual facilita la ruptura de estructuras y permiten la destrucción de paredes celulares, extracción compuestos de interés (Bermúdez-Aguirre, 2017). Con el fin de elucidar si esta tecnología emergente tiene un efecto sobre el rendimiento, propiedades antioxidantes y anti-fúngicas de los extractos se desarrolló la presente investigación.

Por otro lado, considerando el potencial de la planta golondrina como fuente de compuestos bioactivos con distintas propiedades funcionales, se planteó la obtención de las fracciones lipídicas mediante dos métodos de extracción y con la asistencia de pulsos ultrasónicos, gracias a su alta eficiencia, aunado a ser considerada una tecnología emergente, con el propósito de dar un mayor valor agregado a esta planta, y con el fin de disminuir su impacto ambiental y proyectar la generación de una industria de ingredientes funcionales de gran interés.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Tecnológico Nacional de México campus Valle del Yaqui, ubicado en avenida Tecnológico del Valle del Yaqui, Block 611, Bácum, San Ignacio Río Muerto, Ciudad Obregón, Sonora, México. C.P. 85276, específicamente en el área del laboratorio de pulsos ultrasónicos y en el laboratorio de acuicultura. Ambos laboratorios cuentan con el equipo adecuado para la realización de esta investigación.

Colecta de la planta *Euphorbia Prostrata* (Golondrina)

El lugar de donde se obtuvo la hierba fue en las inmediaciones del ejido Cuauhtémoc o llamado también Campo 5, en el Municipio de Cajeme. Se ubica en el sur del estado de Sonora, con coordenadas 27°26'00"N 110°01'00"O. Se colectaron aproximadamente 5 kg (hojas).

Extracción de la fracción lipídica

Extracción por arrastre de vapor

Para la extracción de la fracción lipídica se siguió la metodología de Ozel & Kaymaz en el 2004; mediante el principio de la extracción con el uso del vapor saturado o sobrecalentado, y su paso por la muestra ~~seca~~ a través del flujo del condensador formando en el interior del destilador utilizando el agua como agente extractor (Recio-Cázares et al., 2024; Ozel & Kaymaz, 2004; Virk-Pannu et al., 2018).

El proceso de extracción de arrastre por vapor también llamado hidrodestilación; consistió en colocar la materia prima vegetal (hojas) en el hidrodestilador, de manera que forma un lecho fijo compacto, de la materia vegetal cortada. El vapor de agua se inyecta mediante un distribuidor interno, próximo a su base y con la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del lecho; La generación del vapor fue ~~será~~ mediante la base del recipiente, conforme el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calentó y liberaron los compuestos volátiles contenidos, y estos a su vez, debido a su alta volatilidad se evaporaron y fueron "arrastrados" corriente arriba hacia el tope del hidrodestilador (Virk-Pannu et al., 2018). La mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluyó hacia un condensador, donde la mezcla se enfrió y condensó. A la salida del condensador, se obtuvo una emulsión líquida inestable, la cual, fue separada con un embudo de separación (Ozel & Kaymaz, 2004). Se utilizaron aproximadamente 150 gr de muestra de golondrina en el contenedor para su extracción, el proceso se llevó a cabo varias veces hasta la obtención de la suficiente emulsión para su separación y posterior análisis.

Extracción por arrastre de vapor con la asistencia de pulsos ultrasónicos

Previo a seguir la metodología de Ozel y Kaymaz (2004); para la extracción se utilizaron pulsos ultrasónicos siguiendo la metodología de Usaquén Ramírez & Zafra Agudelo (2018). Se utilizó una

relación 1:10 de golondrina y agua, a continuación, se aplicó los pulsos ultrasónicos durante 20 min con intervalos de 20 segundos de pulsos por 10 segundos de descanso a una amplitud del 30% de onda. Luego de este periodo se siguió la metodología antes mencionada para la extracción por arrastre de vapor (Figura 1).

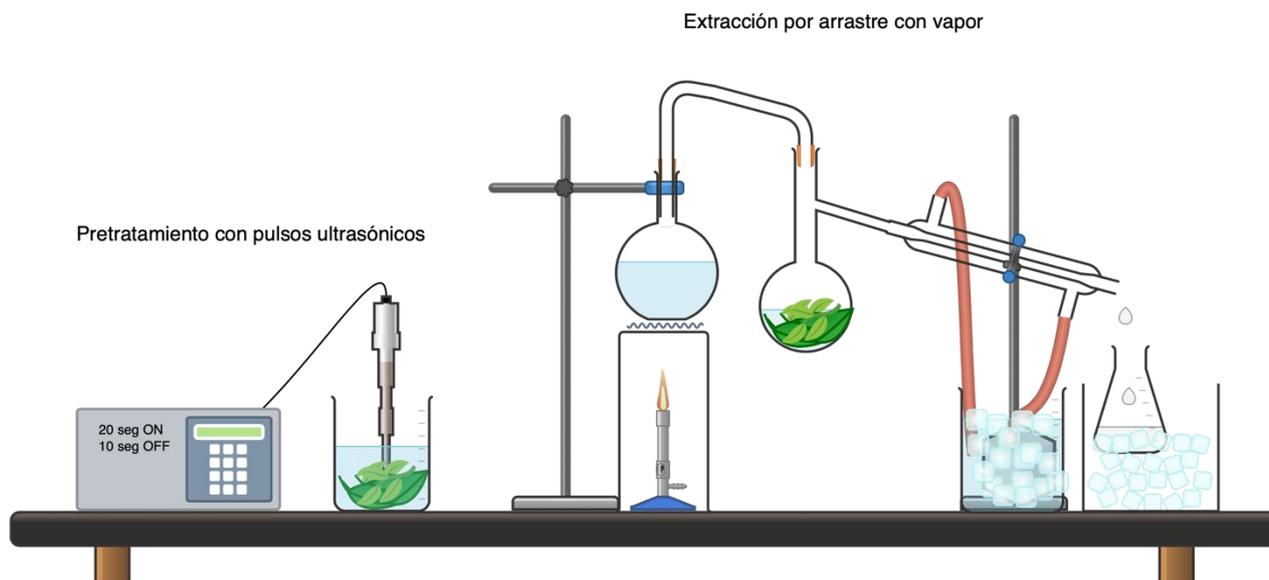


Figura 1. Técnicas de extracción de compuestos bioactivos: Asistencia con pulsos ultrasónicos y Extracción por arrastre con vapor.

Extracción por maceración

Para el método de extracción mediante maceración se siguió la metodología descrita por Melo-Guerrero et al. (2020). En este método de extracción se utilizó la muestra seca y molida, la cual se puso en contacto con alcohol a 96%. Estos disolventes solubilizan la muestra, permitiendo la extracción de distintas sustancias tales como aceites, grasas, proteínas y ceras, obteniéndose así al final una oleorresina o un extracto impuro.

Se trituro la planta golondrina seca en un procesador de alimentos Oster clásico de 1.26 L y se utilizó un molino para reducir el tamaño de partícula. Se pesaron 50 gr de golondrina en matraces y se agregaron 100 mL de etanol al 90%, asegurándose de que cubriera toda la planta triturada y se colocaron en agitación. Una vez sellado se almacenaron en agitación constante durante 10 días protegido de la luz, después de este periodo se procedió a separar el solvente de la muestra mediante filtración con papel whatman número 125 mm con bomba al vacío. El solvente obtenido se guardó en frascos ámbar de vidrio esterilizados previamente.

Extracción por maceración con la asistencia de pulsos ultrasónicos

Después de seguir la metodología descrita por Melo-Guerrero et al. (2020). Se aplicaron los pulsos ultrasónicos siguiendo la metodología de Usaquén Ramírez & Zafra Agudelo (2018). Se aplicaron

directamente en la solución que se preparó en una relación 1:2 de golondrina y alcohol, a continuación, se aplicó los pulsos ultrasónicos durante 20 min con intervalos de 20 segundos de pulsos por 10 segundos de descanso a una amplitud del 30% de onda. Luego de este periodo se siguió la metodología antes mencionada para la extracción por maceración (Figura 2).

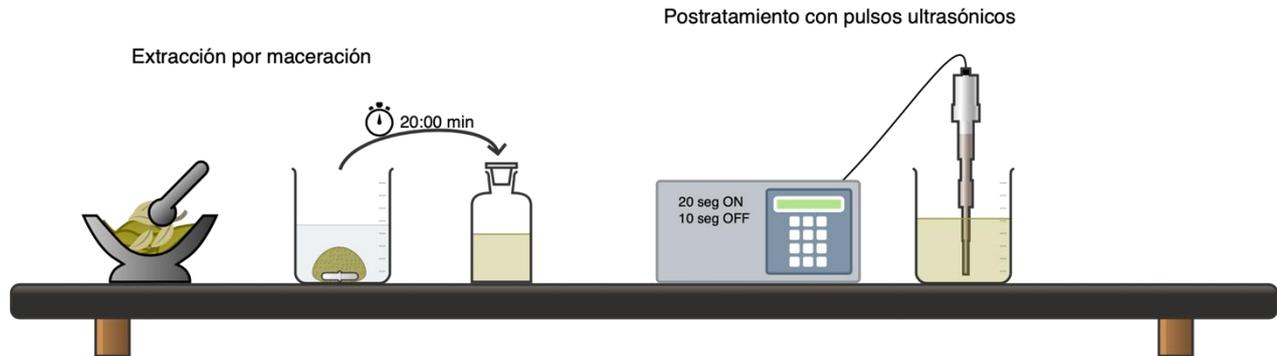


Figura 2. Técnicas de extracción de compuestos bioactivos: Extracción por maceración y asistencia con pulsos ultrasónicos.

Determinación de la capacidad antifúngica

Para la determinación de la capacidad antifúngica se siguió la metodología de Smith y col 1985. El primer paso consistió en reactivar las cepas del hongo *Saprolegnia*, siguiendo la metodología de Flint et al. (2004); se incuban en agar avena, el proceso de reactivación consistió en dejar reposando avena durante 24 horas en agua destilada, a razón de 40 gr/L. Después se prepararon 600 mL de medio de cultivo utilizando el caldo de avena como base para el medio, se adicionaron 2 gr/L de extracto de levadura, 5gr/L de glucosa y 25 gr/L de agar bacteriológico, se llevó a la autoclave a 121 °C, el medio fue acidificado después de la esterilización, con ácido tartárico al 10% a razón de 14mL/L de medio, cuando este alcanzo 45 °C.

A continuación, se evaluó la capacidad antifúngica de los distintos extractos obtenidos siguiendo la metodología de Marqués-Camarena (2015). Se utilizaron dos concentraciones de los distintos extractos 500 µL y 1000 µL, mediante la siembra por difusión en pozo, incubándose a 26 °C para su posterior evaluación radial a los 10 días (Figura 3).

Los extractos evaluados fueron codificados de la siguiente manera, **VSP**: golondrina extraída por arrastre con vapor sin pulsos, **VCP**: golondrina extraída arrastre con vapor asistida con pulsos, **MSP**: golondrina extraída por maceración sin pulsos, **MCP**: golondrina extraída por maceración con pulsos.

Determinación de la actividad antioxidante

Para la determinación de la capacidad antioxidante se siguió la metodología propuesta por Dewanto et al. (2002), con modificación por Tovar del Rio (2013). Se pesaron 1.23 mg de 2,2-difenil-1-

picrilhidracilo (DPPH) en un matraz volumétrico y se disolvieron en 25 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) para obtener una solución 125 μ M, la cual se puso en agitación, esta solución madre se utilizó para preparar las diluciones de los distintos viales con los extractos lipídicos obtenidos de la golondrina y se diluyeron en 1 ml de DMSO para obtener soluciones stock de las cuales se tomaron 100 μ l y se diluyeron en 900 μ l para obtener la primera dilución y así sucesivamente. Los resultados se han expresado en equivalentes a Trolox (Figura 3).

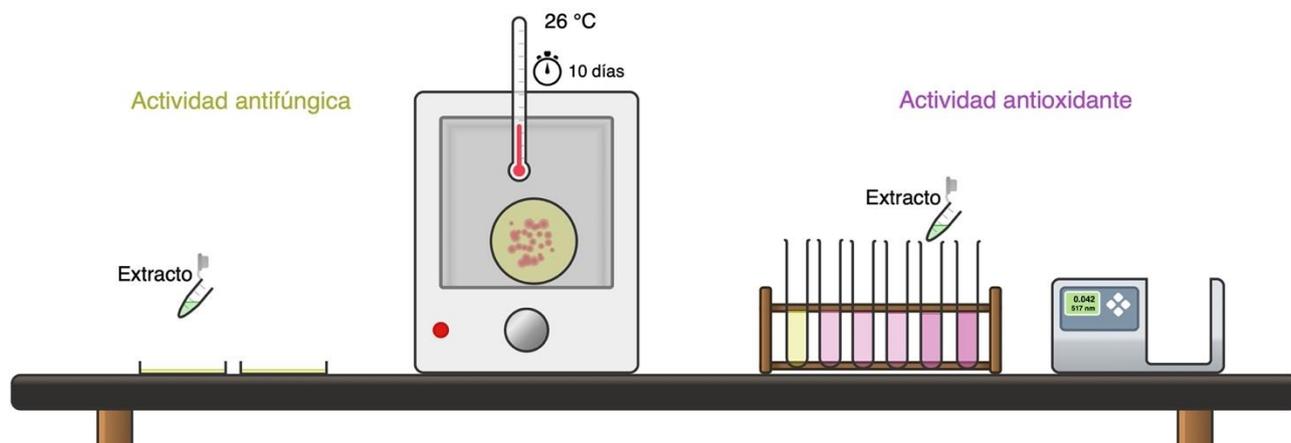


Figura 3. Determinación de actividad antifúngica y actividad antioxidante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento de los extractos lipídicos

En el Cuadro 1. se observa que el método de extracción por arrastre con vapor con asistencia de pulsos ultrasónicos muestra una diferencia estadísticamente significativa, siendo superior al método sin la asistencia de pulsos. Un comportamiento similar se aprecia en el método de extracción por maceración con asistencia de pulsos ultrasónicos, donde se registran valores más altos comparados con la maceración sin pulsos ultrasónicos.

Cuadro 1. Rendimiento de extracción de fracciones lipídicas

Método de extracción	Pulsos ultrasónicos	Rendimiento %
Arrastre por vapor	Con asistencia	13 \pm 1.2 ^a
	Sin asistencia	10 \pm 0.9 ^b
Maceración	Con asistencia	29 \pm 0.8 ^c
	Sin asistencia	25 \pm 1.0 ^d

Los resultados son promedio de 3 repeticiones \pm desviaciones estándar. Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa entre tratamientos por t-Student para $p < 0.05$

Asimismo, el método de extracción que presenta mayor rendimiento en cuanto a la fracción lipídica es la maceración con asistencia de pulsos ultrasónicos. Este comportamiento posiblemente se

relaciona con el efecto de la cavitación proporcionado por los pulsos ultrasónicos, que rompe estructuras internas donde se encuentran las fracciones lipídicas de la planta golondrina, permitiendo así una mayor extracción, independientemente del método utilizado (Paucarchuco-Soto et al., 2023). Comportamientos similares fueron reportados para la extracción de aceite esencial de toronja mediante arrastre de vapor y maceración por Hernández-Castillo (2021).

Determinación de la capacidad antifúngica

En el cuadro 2 se puede observar el efecto antifúngico de los distintos extractos lipídicos de golondrina obtenidos por ambos métodos arrastre de vapor y maceración. Se utilizaron dos concentraciones para su evaluación frente al hongo *Saprolegnia*, durante un periodo de 10 días.

Los porcentajes de inhibición más altos frente al hongo *Saprolegnia* fueron alcanzados por el extracto obtenido mediante arrastre por vapor con asistencia de pulsos ultrasónicos, a una concentración de 1000 μL , permitiendo el crecimiento del hongo en un 30%. Este método fue seguido por el extracto obtenido por maceración con asistencia de pulsos ultrasónicos, a la misma concentración, permitiendo un crecimiento del hongo del 51%. Estos resultados indican que la asistencia de pulsos ultrasónicos potencia significativamente la capacidad antifúngica de los compuestos presentes en las fracciones lipídicas obtenidas mediante diversos métodos de extracción. Comportamientos similares fueron reportados en la evaluación de aceites esenciales incorporados a películas de quitosano (Valencia-Sullca, et al., 2018).

Cuadro 2. Capacidad antifúngica.

Extractos	Concentración (μl)	Diámetro (mm)	Crecimiento (%)
Control (Sin extracto)	-	35.2 ± 0.05^a	100
VSP	500	35.1 ± 0.05^a	100
	1000	24.5 ± 0.02^b	70
VCP	500	30.1 ± 0.03^c	86
	1000	10.5 ± 0.08^d	30
MSP	500	35.2 ± 0.04^a	100
	1000	30.3 ± 0.07^c	86
MCP	500	32.5 ± 0.06^e	93
	1000	17.8 ± 0.03^f	51

Los resultados son promedio de 6 repeticiones \pm desviaciones estándar. Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa entre tratamientos por t-Student para $p < 0.05$. VSP: golondrina extraída por vapor de agua sin pulsos. VCP: golondrina extraída por vapor de agua asistida con pulsos. MSP: golondrina extraída por maceración sin pulsos. MCP: golondrina extraída por maceración con pulsos

La actividad antifúngica observada se atribuye principalmente a los compuestos volátiles y aceites esenciales presentes en las fracciones lipídicas (Allagui et al., 2024; Álvarez-García et al., 2023). Los

extractos que no fueron tratados con asistencia de pulsos ultrasónicos permitieron un mayor crecimiento del hongo, con valores de inhibición que variaron del 70% al 100%. Esto resalta la eficacia de los métodos asistidos por ultrasonidos en la extracción y activación de componentes antifúngicos, subrayando su potencial en aplicaciones antifúngicas avanzadas (Nazzaro et al., 2017; Pabon et al., 2022).

Determinación de la capacidad antioxidante

Los valores obtenidos en relación con la capacidad antioxidante de los distintos extractos se pueden observar en el Cuadro 3. Los valores más altos fueron alcanzados por el método de extracción por arrastre de vapor asistido con pulsos ultrasónicos, con un valor de 103.30 en capacidad antioxidante. Un comportamiento similar se observa en el extracto obtenido por maceración asistida con pulsos ultrasónicos, que presenta un valor de 92.79. Esto confirma que el uso de pulsos ultrasónicos como asistente en la extracción de fracciones lipídicas mejora las propiedades funcionales de los compuestos extraídos, independientemente del método utilizado para su obtención.

Cuadro 3. Capacidad antioxidante

Tratamiento	Actividad antioxidante
MSP	85.86 ± 0.08 ^a
MCP	92.79 ± 0.11 ^b
VSP	100.66 ± 0.02 ^c
VCP	103.30 ± 0.05 ^d

Los resultados son promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa entre tratamientos por t-Student para $p < 0.05$. VSP: golondrina extraída por vapor de agua sin pulsos. VCP: golondrina extraída por vapor de agua asistida con pulsos. MSP: golondrina extraída por maceración sin pulsos. MCP: golondrina extraída por maceración con pulsos.

CONCLUSIONES

El uso de los pulsos ultrasónicos no solo mejora la eficiencia de la extracción de compuestos bioactivos, sino que también incrementa significativamente el rendimiento y la efectividad de las fracciones lipídicas extraídas. Este método, al aprovechar el fenómeno de la cavitación, facilita la ruptura de las estructuras celulares y la liberación de compuestos bioactivos, logrando así una mayor concentración de sustancias funcionales en los extractos obtenidos.

Por otro lado, los pulsos ultrasónicos, además de mejorar la extracción de compuestos bioactivos, también incrementan su efectividad antifúngica, ofreciendo una estrategia prometedora para el control de patógenos como *Saprolegnia*. Estos hallazgos están en consonancia con investigaciones previas que demuestran la efectividad de los aceites esenciales en aplicaciones antifúngicas.

Los valores obtenidos respecto a la capacidad antioxidante son coherentes con determinaciones anteriores, evidenciando el efecto positivo de la asistencia de pulsos ultrasónicos. Esta técnica también potencia las propiedades antioxidantes de los compuestos extraídos, demostrando ser una herramienta valiosa para mejorar la calidad y eficacia de los extractos obtenidos.

La utilización de pulsos ultrasónicos como asistente en el proceso de extracción de las fracciones lipídicas no solo optimiza la recuperación de compuestos bioactivos, sino que también incrementa su funcionalidad, abriendo nuevas posibilidades de uso en diversas aplicaciones industriales y científicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez-García, S.; Moumni, M.; & Romanazzi, G. (2023). Antifungal activity of volatile organic compounds from essential oils against the postharvest pathogens *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructicola*, *Monilinia fructigena*, and *Monilinia laxa*. *Frontiers in Plant Science*, 14.
- Allagui, M. B.; Moumni, M.; & Romanazzi, G. (2024). Antifungal Activity of Thirty Essential Oils to Control Pathogenic Fungi of Postharvest Decay. *Antibiotics*, 13(1), 28.
- Bermudez-Aguirre, D. (2017). *Ultrasound: Advances in food processing and preservation*. 1st Edición, Kindle *Londres (ed) elsevier*. 529p.
- Casado-Villaverde, I. (2018). Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor. Tesis de Licenciatura en ingeniería en tecnologías industriales, Universidad politécnica de Madrid, Madrid.
- Flint, S. J.; Enquist, L. W.; Krug, R. M.; Racaniello, V. R.; & Skalka, A. M. (2004). *Principles of Virology, Molecular Biology, Pathogenesis and Control*. A S M Press. Washington D C. 663-713 pp.
- Dewanto, V.; Wu, K.; Adom & Liu, R. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 3010-3014.
- Hernández-Castillo, A. V. (2021). *Extracción De Aceite Esencial De Subproductos De La Toronja (Citrus PARADISI) Asistida Por Pulsos Ultrasónicos*, Sonora: Instituto Tecnológico del Valle Del Yaqui.
- Marqués-Camarena, M. (2015). *Composición química de los aceites esenciales de Lavanda y Tomillo. Determinación de la actividad antifúngica.*, Tesis de licenciatura en ingeniería agronómica y del medio rural. Universidad Politécnica. Valencia. España.
- Melo-Guerrero, M. C.; Ortiz-Jurado, D. E.; & Hurtado-Benavides, A. M. (2020). Comparison of the composition and antioxidant activity of the chamomile essential oil (*Matricaria chamomilla*L.) obtained by supercritical fluids extraction and other green techniques. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 44(172):845-856.
- Nazzaro, F.; Fratianni, F.; Coppola, R.; & De Feo, V. (2017). Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals*. 10(4):86, 1:20.

- Ozel, M.; & Kaymaz, H. (2004). Superheated water extraction, steam distillation and Soxhlet extraction of essential oils of *Origanum onites*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 379:1127-1133.
- Pabon, L. C.; Granados-Flórez, J.; Rodríguez-Álvarez, M. F.; Hernández-Rodríguez, P.; & Velasco, W. J. (2022). Antimicrobial Activity of Plant Extracts against Isolated Staphylococcus Infection in Patients with Bacterial Conjunctivitis. *Revista Ciencias de la Salud*. 21(1):1-14.
- Paucarchuco-Soto, J.; Torres-Gutiérrez, E. R.; Javier-Ninahuaman, H. J.; & Flores-Poma, I. G. (2023). Ultrasound optimization for extraction of essential oils from chamo-mile “*Chamaemelum nobile*” using surface response methodology. *Kanyu*. 1(1):2023.
- Pérez-Pezo, G. (2000). Extracción de aceite esencial a partir de cáscara de naranja valencia (*Citrus sinensis*) por dos métodos: arrastre de vapor y solvente orgánico. Tesis de Licenciatura en ingeniería en industrias alimentarias, *Facultad de industria alimentaria*. Universidad Agraria de la selva Tingo María.
- Recio-Cázares, S. L.; Jiménez-González, O.; López-Malo, A.; Palou, E.; & Ramírez-Corona, N. (2024). Enhancing the extraction of essential oil from Mexican lippia (*Aloysia citriodora*) leaves obtained by hydro-distillation aided by natural deep eutectic solvents (NADES). *Chemical Engineering and Processing*, 195,1-9.
- Rojas, N.; Avellaneda, S.; & Cuellar-Cuellar, A. (2010). Plantas empleadas en medicina tradicional en tierra caliente, guerrero, México para el tratamiento de enfermedades, Colombia-México: *Revista colombiana de ciencia animal-recia*. 2(1) 2010.
- Tovar del Rio, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. Tesis de licenciatura de químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia.
- Usaquén Ramírez, M. J.; & Zafra Agudelo, M. A. (2018). Evaluación del proceso de obtención de aceite esencial de semilla de mango a nivel laboratorio, Tesis: Licenciatura. Facultad de ingeniería química, Fundación Universidad de América, Bogotá Colombia.
- Valenzuela-Soto, R.; Jiménez-Villarreal, J.; García-Garza, R.; Betancourt-Martínez, N.; Lozoya-Martínez, R.; Almaráz-Celis, D.; & Morán-Martínez, J. (2019). Evaluation of the Antioxidant Activity of *Cnidioscolus chayamansa* (Chaya), *Euphorbia prostrata* (Herb of the Swallow) and *Jatropha dioica* (Drago blood) in Wistar rats Induced to Hyperglycemia. *International Journal of Morphology*, 37(1):36-42, 2019.
- Valencia-Sullca, C.; Vargas, M.; Atarés, L.; Chiralt, A. (2018). Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, 75, 107-115.
- Villamiel, M.; Montilla, A.; García-Pérez, J.; Cárcel, J.; & Bénédicto, J. (2017). Ultrasound in food processing: Recent advances. *España John wiley-blackwell*.
- Virk-Pannu, S. K.; Kaur, H.; Kaur, K.; Singh, V. (2018). A Comparative Study Of Various Oil Extraction Techniques In Plants: A Review. *Agriways Journal*, 6(2), 59-65.

Evaluación de la sustitución parcial de harina de pescado por harina de *Amaranthus hybridus* para cultivo de tilapia (*Oreochromis aureus*)

Recibido em: 08/05/2024

Aprobado en: 29/05/2024

 10.46420/9786585756365cap4

Joe Luis Arias Moscoso¹ 

Alba Roció Ochoa Meza¹ 

Dulce Alondra Cuevas Acuña² 

Barbara Aboites Martínez¹ 

Jaime Edzael Mendivil Mendoza¹ 

Francisco Cadena Cadena^{1*} 

RESUMEN

En la acuicultura, la alimentación representa casi la mitad de los costos de producción, siendo crucial para la salud y el bienestar de los peces. Las dietas T1, T2 y T3 mostraron un mayor contenido de proteína y fibra en comparación con un grupo control alimentado con alimento comercial puro. Esto favorece un crecimiento saludable y digestión eficiente, con menos grasa para mantener un peso corporal adecuado y reducir riesgos de enfermedades. Además, todas las dietas mantuvieron niveles adecuados de cenizas y mostraron mayor contenido energético en T1, T2 y T3. Estudios anteriores respaldan la sustitución parcial de la harina de pescado por fuentes alternativas de proteína como harina de lenteja o grillo, mejorando la composición nutricional y el rendimiento de los peces. T1 destacó por su mejor crecimiento frente al control, mientras que T2 y T3 mostraron crecimiento inferior en fases posteriores del estudio. Los parámetros fisicoquímicos del agua fueron óptimos para la tilapia, incluyendo temperatura y oxígeno disuelto. Las dietas con proteínas vegetales, aunque a menudo vistas como inferiores a la harina de pescado, demostraron ser superiores en costo-beneficio y salud de los organismos, resaltando la harina de *Amaranthus hybridus* como sustituto sostenible con alta tasa de supervivencia.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura se ha consolidado como una actividad económica importante en diversos países, aprovechando la capacidad de ciertos organismos acuáticos para adaptarse a varios entornos y alcanzar altos niveles de producción comercial. Estos peces se distinguen por su rápido crecimiento, eficiente

¹ Tecnológico Nacional de México/I. T. del Valle del Yaqui. Av. Tecnológico, Block 611, Bácum, Sonora. México.

² Universidad de Sonora. Bulevar. Bordo Nuevo s/n, antiguo Ejido Providencia, Cd. Obregón, Sonora, México. CP 85010
Autor correspondiente: fcadena.cadena@itvy.edu.mx

conversión de alimentos y resistencia a enfermedades (Alburqueque & Minuche, 2021). Sin embargo, para garantizar una producción exitosa, es fundamental emplear alimentos que proporcionen niveles adecuados de proteína según el ciclo de vida del organismo (Alburqueque & Minuche, 2021; Loachamin et al., 2020).

Según los datos presentados por la FAO en 2022, la producción mundial de acuicultura alcanzó las 87.5 millones de toneladas de peso vivo en el año 2020. En cuanto a la producción global de pescado, se estima que llegó a unos 179 millones de toneladas durante ese mismo año (FAO, 2022).

La distribución de la producción total muestra que el 63% (112 millones de toneladas) provino de aguas marinas, de las cuales el 70% procedió de la pesca de captura y el 30% de la acuicultura. Por otro lado, el 37% (66 millones de toneladas) provino de aguas continentales, con un 83% proveniente de la acuicultura y un 17% de la pesca de captura (FAO, 2022).

Dentro del ámbito acuícola, se enfrentan diversos desafíos operativos y de costos, especialmente en lo relacionado con la alimentación, que suele representar la fracción más significativa del gasto en el cultivo de organismos acuáticos. Los insumos predominantes en la elaboración de alimentos acuícolas son la harina y el aceite de pescado (Hodar et al., 2020; Morales, 2009) que representan del 50 al 70% del alimento comercial. Sin embargo, estos recursos se encuentran sometidos a una intensa presión debido a su explotación excesiva, lo que supone una amenaza para la sostenibilidad de la pesca de captura (García-Medel, 2022). Como resultado, sus costos aumentan, tanto en su adquisición como en su procesamiento, impulsando a la industria alimentaria a buscar fuentes alternativas de proteína que puedan sustituir a la harina de pescado y a disminuir el costo de producción (Wangkahart et al., 2023).

Una alternativa para disminuir el costo de producción es el uso de proteína vegetal que busca satisfacer las demandas del sector acuícola y ofrecer una alternativa a la sobreexplotación de la harina de pescado (Özdemir & Yıldız, 2019). Ante este escenario, la harina derivada de *Amaranthus hybridus* surge como una alternativa para reemplazar la harina de pescado en la alimentación acuícola. Esto se debe en gran medida a su contenido proteico que puede alcanzar hasta un 22%, este recurso se destaca por su capacidad para mejorar el crecimiento del organismo (Claudett et al., 2022; Párraga-Vergara & Parrales Mendoza, 2020). Los datos obtenidos permitirán determinar el efecto de sustituir parcialmente el alimento comercial por harina de *Amaranthus hybridus* en dietas para cultivo de tilapias (*O. aureus*), en los parámetros productivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Acuicultura del Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico del Valle Del Yaqui en las coordenadas 27° 24' 41"N y 110° 7' 53"O. Se emplearon un total de 200 alevines reversados de *Oreochromis spp*, con una masa corporal promedio de $1,18 \pm 0,01$ g. Estos alevines fueron aclimatados durante 60 min en un tanque con capacidad de 1000

litros. El estudio se desarrolló durante un período de 70 días, abarcando los meses de abril y mayo del año 2023.

Las hojas de *Amaranthus hybridus* fueron recolectadas en el Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui fueron se secadas en el laboratorio de pulsos ultrasónicos de la institución, a una temperatura de 40°C durante 24 horas. Posteriormente, las hojas secas fueron trituradas y tamizadas en un tamiz de 80 puntos por pulgada cuadrada

Análisis químico proximal

Los parámetros cuantitativos se llevaron a cabo utilizando los procedimientos estandarizados de la Asociación de Químicos Analíticos (AOAC) (AOAC, 2006).

Contenido de humedad

El contenido de humedad total del alimento fue determinado utilizando el método AOAC 950.46 (2006). La muestra de alimento se sometió a un proceso de secado en un horno de ventilador a 105°C durante un período de 4-5 horas para eliminar toda la humedad presente en la muestra. Posteriormente, se calculó el contenido total de humedad mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido de Humedad (\%)} = \frac{\text{Pérdida de peso}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

Cenizas totales

El proceso comenzó con el pesaje y preparación de nueve crisoles, que se lavaron, secaron a 100°C y se marcaron del 1 al 12. Luego, se agregaron 3 g de muestra en polvo a cada crisol y se calcinaron a 550°C durante 6 horas. Después de enfriar en un desecador, se pesaron nuevamente para calcular el porcentaje de cenizas.

$$\text{Cenizas totales (\%)} = \frac{W - Z}{N} \times 100$$

Donde W es el peso del crisol y de la ceniza; Z es el peso del crisol vacío; y N es el peso de la muestra.

Determinación de grasa bruta

Se empleó el método Soxhlet [AOAC 920.39 (2006)] para analizar la grasa bruta en la muestra en polvo, utilizando éter de petróleo como solvente. Se colocaron muestras de 3,0 g en dedales marcados y

se extrajeron durante 24 horas en un aparato Soxhlet con éter de petróleo. Después de la extracción, se evaporó el éter, se enfrió el matraz y se pesó para determinar la cantidad de grasa extraída.

$$\text{Lípidos (\%)} = \frac{\text{Peso de los lípidos}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

Análisis de Proteína Bruta

Se analizó el contenido de proteína bruta en las dietas y el alimento comercial utilizando el método Kjeldahl (AOAC 2011.04). Se combinaron 0,15 g de las dietas con 2,5 mL de ácido sulfúrico al 98% y un catalizador en un matraz Kjeldahl de 250 mL. Después de calentar hasta la clarificación, se enfrió y se añadieron 7 mL de agua destilada. La muestra tratada se transfirió a un destilador Micro-Kjeldahl con NaOH al 30% (p/v) para iniciar la destilación. El amoníaco liberado se absorbió en una solución con ácido bórico al 2% y rojo de metilo como indicador, cambiando de color de rojo a verde para indicar la captura completa. La solución se tituló con ácido clorhídrico 0,1 N hasta observar un cambio de color. Se realizó una prueba en blanco junto con la muestra. Finalmente, el porcentaje de nitrógeno se determinó mediante una ecuación específica.

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{(\text{N del HCl})(\text{Volumen gastado del HCl})(1.4 \text{ g/mol})(6.5)}{\text{Gramos de muestra}}$$

Diseño de experimentos

El diseño experimental examinó el crecimiento de los alevines mediante dietas experimentales que consistían en harina de *Amaranthus hybridus* mezclada con alimento comercial en las siguientes proporciones: T1 (75% *Amaranthus hybridus* / 25% alimento comercial), T2 (50% *Amaranthus hybridus* / 50% alimento comercial), y T3 (25% *Amaranthus hybridus* / 75% alimento comercial). Además, se incluyó un tratamiento control que consistió en alimentación exclusiva con alimento comercial. Se instalaron 10 peceras con dimensiones de 40 x 20 x 40 cm (ancho, alto y fondo, respectivamente).

Alimentación y medición de parámetros

Durante el bioensayo, los peces recibieron alimentación 3 veces al día y se realizaron estudios biométricos periódicos (cada 15 días) hasta completar 90 días, con el fin de ajustar la proporción de alimento según la biomasa. Estos estudios biométricos implicaron la medición del peso y la longitud de cada organismo. Para determinar la biomasa de cada unidad experimental, se pesaron los diez organismos de cada tanque. el tamaño de cada organismo se midió con un ictiómetro, tomando la medida desde la cabeza hasta la aleta caudal (Afram et al., 2021; Cadena-Cadena et al., 2023).

Para mantener el agua en condiciones óptimas, se registraron la temperatura, el pH (utilizando un medidor de pH Ohaus ST10) y el oxígeno (con un oxímetro Ysi) dos veces al día (a las 8:30 a.m. y a la 1:00 p.m.) (Cadena-Cadena et al., 2023). Se realizaron sifonados dos veces por semana para eliminar partículas sedimentables, y se llevó a cabo un cambio de agua del 25% diariamente, con una reposición del 50% cada diez días mediante el lavado de piedras aireadoras (Cadena-Cadena et al., 2023; Claudett et al., 2022). La mortalidad se determinó considerando todos los ejemplares fallecidos durante las tres repeticiones y se representó como la proporción entre el número de animales muertos y el número total de animales (Afram et al., 2021).

$$Mortalidad = \left[\frac{\text{Numero de animales muertos}}{\text{Numero total de animales}} \right] \times 100$$

El factor de conversión alimenticia (FCR) se determinó según la ecuación (Cadena-Cadena et al., 2023):

$$FCR = \left[\frac{\text{Total del alimento consumido}}{\text{Peso total del alimento producido}} \right] \times 100$$

El peso total del producto elaborado = peso final del producto – peso inicial. Finalmente, la Eficiencia de Conversión Alimenticia (FCE) se determinó con la siguiente ecuación:

$$FCE = \left[\frac{1}{FCR} \right] \times 100$$

Análisis estadístico

Se calcularon las medias junto con las desviaciones estándar para los resultados obtenidos. Antes de llevar a cabo el análisis estadístico, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los datos. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y, posteriormente, para determinar las diferencias entre los grupos, se realizó la prueba de Tukey. Se consideraron diferencias significativas cuando el valor de p fue menor a 0,05. Todos los análisis se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS ver 23.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis proximal

En la acuicultura, la alimentación supone casi la mitad de los costos totales de producción (Magbanua & Ragaza, 2024). Por lo tanto, la nutrición juega un rol crucial en la salud y el bienestar de los

peces, y la composición de la dieta puede influir en varios aspectos fisiológicos, incluyendo el crecimiento, la reproducción, la inmunidad y la susceptibilidad a enfermedades. Los resultados del análisis indican que las dietas T1, T2 y T3 tuvieron un efecto significativo en la composición nutricional en comparación con el grupo de control (C) alimentado con puro alimento comercial. Específicamente, las dietas T1, T2 y T3 mostraron un mayor contenido de proteína y fibra lo que puede ser beneficioso para el crecimiento, desarrollo y mantenimiento de los tejidos corporales así mismo, podría mejorar la salud digestiva y ayudar en el control del peso corporal de los organismos. Sin embargo, estas mismas dietas exhibieron un menor contenido de grasa en comparación con el grupo control, lo que podría contribuir a mantener un peso corporal saludable y reducir el riesgo de enfermedades y aumentar el crecimiento de los organismos. El contenido de cenizas fue similar en todos los grupos, indicando una adecuada provisión de minerales. Además, las dietas T1, T2 y T3 tuvieron un mayor contenido energético, lo que puede ser beneficioso para satisfacer las necesidades energéticas de los animales (Tabla 1).

Tabla 1. Promedio de parámetros fisicoquímicos en los tratamientos con la inclusión de la harina de *amaranthus hybridus* (A). La columna C es el tratamiento control, T1, T2 y T3 son los diferentes tratamientos

Parámetros	Tratamientos				
	C	A	(25/75)	(50/50)	(75/25)
Proteína (%)	35±1.4 ^a	22.66±1.21 ^b	33.33±2.21 ^a	31.71± 1.56 ^a	32±1.77 ^a
Grasa (%)	11.75±1.7 ^a	11.22± 0.97 ^a	8.15±1.44 ^b	7.6±0.33 ^b	14±0.82 ^b
Humedad (%)	9.47±1.2 ^a	5.49±1.54 ^b	5.21±0.99 ^b	5.43±0.69 ^b	7±0.55 ^b
Cenizas (%)	7.76±0.6 ^a	3.36±0.23 ^b	3.22±0.33 ^b	2.87±0.22 ^b	4±0.29 ^b
Carbohidratos	36.02±1.1 ^a	51.71±3.43 ^b	50.11±0.22 ^b	43.25±0.44 ^c	39±0.49 ^c
Fibra	2.48±1.3 ^a	5.56±0.83 ^b	5.12±0.23 ^b	4.86±0.88 ^b	4±0.76 ^b
pH	7,54 ^a		3 ^a	3 ^a	2 ^a
Temperatura (° C)	29 ^a		a	a	a
Oxígeno Disuelto (mg L⁻¹)	6,55 ^a		6 ^a	0 ^a	6 ^a
Nitrito (mg L⁻¹)	0,00 ^a		0 ^a	0 ^a	0 ^a
Nitrato (mg L⁻¹)	0,00 ^a		9 ^a	8 ^a	1 ^a
Amonio (mg L⁻¹)	1,29 ^a		1 ^b	7 ^b	9 ^{ab}

*Medias con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

Resultados similares se han obtenido en otros estudios que investigaron la sustitución parcial de la harina de pescado por fuentes alternativas de proteína. Por ejemplo, Morales (2009) encontró resultados positivos al sustituir parcialmente la harina de pescado por harina de lenteja (*Lens culinaris*) en el crecimiento de tilapia. Además, Cadena-Cadena., et al (2023) también se observaron beneficios al reemplazar parcialmente la harina de pescado por harina de grillo en la dieta de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Estos estudios respaldan la idea de que la diversificación de fuentes proteicas en las dietas animales puede conducir a mejoras significativas en la composición nutricional y el rendimiento de los animales.

Peso y talla

La Figura 1 muestra el crecimiento diferencial entre los cuatro tratamientos evaluados. Destacando el tratamiento uno como el de mejor desempeño, seguido del tratamiento control. Los tratamientos dos y tres exhiben un crecimiento notablemente inferior. El análisis del crecimiento de la tilapia en la fase inicial (0-30 días) revela un rápido crecimiento en todos los tratamientos, sin diferencias significativas entre ellos, lo que sugiere condiciones iniciales y manejo general adecuados. Sin embargo, en la fase intermedia (30-60 días), se observan discrepancias entre los tratamientos. El tratamiento uno muestra un crecimiento continuo y estable, diferenciándose del resto a partir del día 60 aproximadamente. Esta tendencia ascendente lo posiciona como el de mejor desempeño en crecimiento, comparándolo con el tratamiento control, que mantiene un crecimiento moderado. Este último se sitúa por debajo del tratamiento uno pero por encima de los tratamientos dos y tres, que experimentan un crecimiento más lento, mostrando una leve inflexión a partir del día 35. El tratamiento tres exhibe el menor crecimiento de los cuatro, con una tasa casi estancada a partir del día 30.

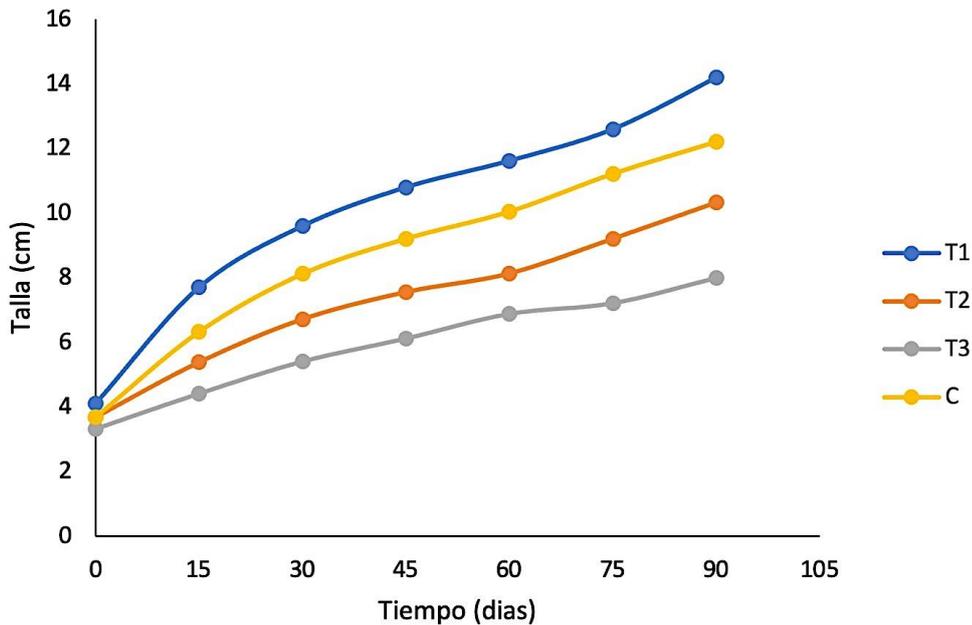


Figura 1. Comparación del crecimiento diferencial de tilapia bajo diferentes tratamientos alimenticios.

En la fase final de los tratamientos, se observó que el tratamiento uno y el tratamiento control mantienen un crecimiento constante. Por otro lado, el Tratamiento dos experimenta un ligero aumento en su tasa de crecimiento, aunque no logra alcanzar el nivel de crecimiento del tratamiento control ni del tratamiento uno. Además, durante esta fase, muestra un crecimiento mínimo y termina con un tamaño más pequeño en comparación con los otros tratamientos al final del experimento.

La Figura 2 presenta el peso promedio en función del tiempo para los cuatro tratamientos diferentes, Al comparar los cuatro tratamientos, resulta evidente que el tratamiento 1 destaca como el más efectivo en promover el aumento de peso de los peces. Esto se refleja en su mayor tasa de

crecimiento promedio y en el peso final alcanzado por los peces en este grupo. El tratamiento control también muestra resultados positivos, aunque con una tasa de crecimiento ligeramente menor. Por otro lado, el tratamiento 2 exhibe un crecimiento promedio más modesto, mientras que el tratamiento 3 registra el menor crecimiento de todos.

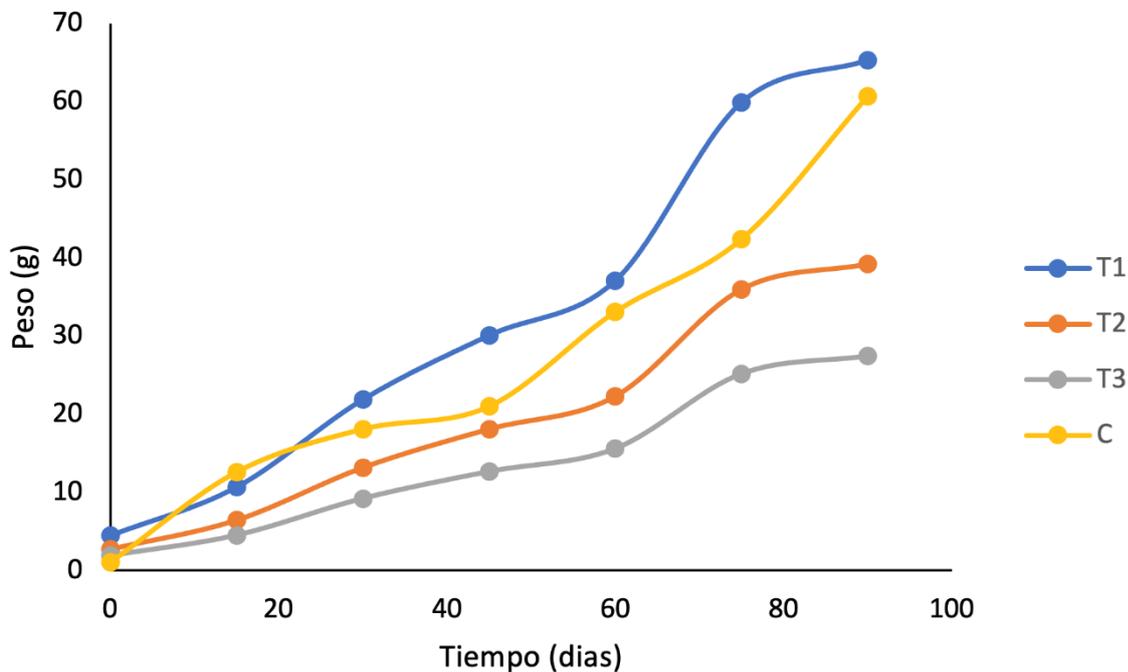


Figura 2. Comparación del peso diferencial de tilapia bajo diferentes tratamientos alimenticios.

El tipo de alimento utilizado está estrechamente relacionado con el aumento de peso y talla de los peces. Sin embargo, estos factores también se encuentran relacionados con los parámetros fisicoquímicos (Tabla 1) (Cabrera-B., 2001; Carpio & Fernández, 2019). La temperatura de crecimiento fue de 29°C, confirmando que se encuentra en el rango óptimo para tilapia. Otro aspecto importante es el nivel de oxígeno disuelto que osciló entre 6,70 y 6,88 mg L⁻¹, lo cual se encuentra dentro del rango permitido para el cultivo de tilapia (5,0 a 9,0 mg L⁻¹) (Claudett et al., 2022). Además, diversas investigaciones han encontrado que niveles superiores a 4,5 mg L⁻¹ son propicios para el crecimiento y la supervivencia de los organismos, dado su impacto en el metabolismo y la conversión alimenticia, convirtiéndose en un factor relevante en los cultivos (Claudett et al., 2022; Vargas et al., 2017). Las concentraciones de amonio fluctuaron entre 0,52 y 1,24 mg L⁻¹, los nitratos (NO₃) oscilaron entre 0,33 y 0,67 mg L⁻¹, y los nitritos (NO₂) permanecieron en 0,0 mg L⁻¹, lo que se encuentra dentro de los límites aceptables para la especie (Cadena-Cadena et al., 2023; Magbanua & Ragaza, 2024). No obstante, la falta de control sobre estos factores puede afectar la transferencia de oxígeno y por consiguiente el peso y la talla de los organismos (Claudett et al., 2022).

Las dietas para la alimentación acuícola que contienen proteínas vegetales son consideradas inferiores a la harina de pescado (Hardy, 2010), debido a su perfil de aminoácidos insuficiente, menor palatabilidad y la presencia de factores antinutricionales (FNA) que afectan el desempeño general de los peces de cultivo (Gatlin Iii et al., 2007). Sin embargo, diversos estudios han demostrado que las dietas basadas en proteínas vegetales (El-Sayed, 1999; Wu et al., 2022), son superiores a la harina de pescado en términos de análisis de costo-beneficio. Por ejemplo, la inclusión del 20 % de harina de *L. culinaris* en *C. carpio* aumento la ganancia de peso y talla (Abdulrahman & Abdulla, 2020), del mismo modo, la sustitución completa harina de pescado por la mezcla de harina de soja, harina de girasol, harina de semillas de algodón y harina de linaza no mostró diferencias significativas en el rendimiento del crecimiento y la composición próxima de la canal de la tilapia del Nilo. A pesar de tener una menor digestibilidad proteica aparente, el análisis costo-beneficio demostró que superaba a la harina de pescado en un estudio de 16 semanas en juveniles de tilapia del Nilo (El-Saidy & Gaber, 2002).

La harina de *Amaranthus hybridus* además de ser un sustituto rentable y sostenible de la harina de pescado puede incrementar la salud de los individuos, esto se demuestra con una supervivencia de más del 90%. Algunos estudios mencionan que las proteínas de origen vegetal pueden promover la salud y el crecimiento adecuado de los peces (Magbanua & Ragaza, 2024). La evaluación de la sustitución del 30% de harina de pescado por hojas fermentadas de moringa en un cultivo de tilapia roja aumentó los niveles de proteína plasmática, hematocrito y leucocrito, por consiguiente, mejoró la inmunidad de los peces. Además, se observó un notable estímulo en el índice y la actividad fagocítica (Helmiati & Isnansetyo, 2021). Por otra parte, La velocidad de crecimiento, medida por la tasa de crecimiento absoluto (TCA), varía a lo largo del ciclo de vida de los individuos, aumentando con el tiempo. En este estudio, se registraron valores bajos de TCA (0.31 g para el tratamiento Control y 0.25 g para el tratamiento T1) en comparación con estudios anteriores en los cuales el TCA es mayor, esta diferencia puede estar relacionada con la temperatura ambiental. Si bien, la temperatura promedio fue de 29°C la TCA disminuye a medida que la temperatura disminuye y la temperatura ambiental por las noches puede llegar a disminuir a menos de 20°C (Claudett et al., 2022; Muñoz-Peñuela et al., 2021; van Denderen et al., 2020) La tasa de crecimiento está influenciada por la temperatura, la luz, los constituyentes químicos permanentes del agua como sales, compuestos orgánicos (calidad del agua) y concentración de oxígeno (Blanco-Cachafeiro, 1995).

CONCLUSIONES

La alimentación en la acuicultura representa una parte significativa de los gastos de producción, por lo que se diseñan diversas dietas con el fin de mejorar la rentabilidad en el cultivo de peces. Estas dietas pueden tener un impacto notable en la composición corporal y la salud de los peces. La inclusión del 75% de harina de *Amaranthus hybridus* en la dieta de alevines de tilapia Nilo (*Oreochromis niloticus*)

puede considerarse como un suplemento alimenticio viable, ya que promueve un mayor crecimiento en peso y tamaño en comparación con el alimento comercial. Todas las dietas muestran una supervivencia superior al 90%. Además, las condiciones del agua se mantienen dentro de los rangos aceptables para el cultivo de tilapia. La harina de *Amaranthus hybridus* puede ser un sustituto rentable, sostenible y beneficioso para la salud y el desarrollo de los peces.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdulrahman, N. M., & Abdulla, Z. S. (2020). Effect of raw lentil seed meal in common carp *Cyprinus carpio* L. diets as an alternative source of fish meal protein. *Basrah Journal of Veterinary Research*, 19(3), 163-176.
- Afram, F., Agbo, N. W., Adjei-Boateng, D., & Egna, H. (2021). Effects of feeding strategies on growth performance and economic returns on the production of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Fertilized Ponds. *Aquaculture Studies*, 21(2), 63-73.
- Alburquerque, J. E. R., & Minuche, P. R. (2021). Nuevas consideraciones en el uso de Sacha Inchi como fuente proteica en la alimentación de organismos acuáticos. *Dominio de las Ciencias*, 7(2), 125-143.
- AOAC, A. O. O. A. C. (2006). Official methods of analysis (Vol. 222): Association of Official Analytical Chemists Washington, DC.
- Blanco-Cachafeiro, C. M. (1995). La trucha: cría industrial. 5, 121-125.
- Cabrera-B., T. J. M.-Q. J. R.-C. J. R. (2001). Cultivo del híbrido de tilapia en un ambiente marino, sustituyendo harinas de pescado por soya. *Ciencia Pesquera*, 15.
- Cadena-Cadena, F., Cuevas-Acuña, D. A., Frias, B. C., Hernández, R. C., Nuñez, J. C. G., Martínez, B. A., & Arias-MoscOSO, J. L. (2023). Replacement of fishmeal by common cricket (*Acheta domesticus*) meal in diets for juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*).
- Carpio, M., & Fernández, Ó. (2019). Análisis de la calidad del agua para el manejo de tilapia (*Oreochromis* sp.) y chame (*Dormitator latifrons*) en el km 27, 5 vía a Daule.
- Claudett, K. L. A., Orben, J. J. J., Cevallos, G. C. T., Noboa, A. R. T., & Riofrío, G. B. P. (2022). Eficiencia de una dieta con base en harina de lenteja (*Lens culinaris*), en el crecimiento de alevines de tilapia. *AquaTechnica: Revista Iberoamericana de Acuicultura*, 4(1), 40-52.
- El-Sayed, A.-F. M. (1999). Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. *Aquaculture*, 179(1-4), 149-168.
- El-Saidy, D. M. S. D., & Gaber, M. M. A. (2002). Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary L-lysine supplementation for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Journal of the world Aquaculture Society*, 33(3), 297-306.

- FAO. (2022). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul. In. Roma, FAO: Food and Agriculture Organization.
- García-Medel, D. I. (2022). Seguridad alimentaria: retos y desafíos de la acuicultura en México. *Journal of Behavior and Feeding*, 2(2), 10-19.
- Gatlin Iii, D. M., Barrows, F. T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. G., Hardy, R. W., & Nelson, R. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38(6), 551-579.
- Hardy, R. W. (2010). Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*, 41(5), 770-776.
- Helmiati, S., & Isnansetyo, A. (2021). The replacement of fish meal with fermented Moringa leaves meal and its effect on the immune response of red tilapia (*Oreochromis* sp.).
- Hodar, A. R., Vasava, R. J., Mahavadiya, D. R., & Joshi, N. H. (2020). Fish meal and fish oil replacement for aqua feed formulation by using alternative sources: a review. *Journal of Experimental Zoology India*, 23(1).
- Loachamin, J. P. Q., Bermeo, M. D. U., RodrÁguez, L. T. C., & Cervantes, L. P. (2020). Alimentos alternativos a formular para Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) segun sus necesidades nutritivas y procesos eficientes de residuos de mataderos. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal*, 4(3), 31-53.
- Magbanua, T. O., & Ragaza, J. A. (2024). Selected dietary plant-based proteins for growth and health response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture and Fisheries*, 9(1), 3-19. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.04.001>
- Morales, S. (2009). Evaluación de la calidad alimentaria de la harina de Lemna obscura como ingrediente en la elaboración de alimento para tilapia roja (*Oreochromis* spp.). *Revista científica*, 19(3), 303-310.
- Muñoz-Peñuela, M., García-Ulloa, M., Medina-Godoy, S., & Rodríguez-González, H. (2021). Cull-chickpea meal as a partial substitute for fishmeal in the diet of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Int. J. of Aquatic Science*, 12(2), 1791-1796.
- Özdemir, K. Y., & Yıldız, M. (2019). Effects of Dietary Fish Meal Replacement by Red Lentil Meal on Growth and Amino Acid Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 34(2), 194-203.
- Párraga-Vergara, A. L., & Parrales Mendoza, V. Y. (2020). Efecto de la incorporación de harina *Amaranthus Dubius* sobre la conversión alimenticia del camarón de baja salinidad en etapa post larva.
- Van Denderen, D., Gislason, H., Van den Heuvel, J., & Andersen, K. H. (2020). Global analysis of fish growth rates shows weaker responses to temperature than metabolic predictions. *Global Ecology and Biogeography*, 29(12), 2203-2213.

- Vargas, R. V., Martínez, P., & Arevalo, J. J. (2017). Evaluación preliminar de un sistema de recirculación de aguas para un prototipo implementado en la producción de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Ingeniería y Región*(18), 23-32.
- Wangkahart, E., Kersanté, P., Phudkliang, J., Nontasan, S., Pholchamat, S., Sunthamala, P., . . . & Pakdeenarong, N. (2023). Effects of a free amino acid mixture in replacing dietary fishmeal and reducing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production costs. *Aquaculture Reports*, 32, 101739.
- Wu, Z., Yu, X., Guo, J., Fu, Y., Guo, Y., Pan, M., & Mai, K. (2022). Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on growth performance, intestinal microbiota, mTOR pathway and immune response of abalone *Haliotis discus hannai*. *Aquaculture Reports*, 23, 101007.

Potencial del género *Pleurotus* como agente biorremediador en la eliminación de metales pesados de suelos: un enfoque biotecnológico para la agricultura sostenible

Recibido en: 18/06/2024

Aprobado en: 25/06/2024

 10.46420/9786585756365cap5

Pamela Romo-Rodríguez^{1*} 

Oscar Abraham Flores-Amaro² 

Francisco Javier Avelar-Gonzalez² 

RESUMEN

El género *Pleurotus* ha emergido como un potencial agente biorremediador en la eliminación de metales pesados del suelo, ofreciendo una perspectiva innovadora en la búsqueda de soluciones para la agricultura sostenible y su aplicación en la producción y conservación de alimentos. Su capacidad para absorber, acumular y biotransformar metales pesados convierte a los miembros de este género en candidatos prometedores para la recuperación de suelos contaminados y la mejora de la calidad de los alimentos. A través de mecanismos bioquímicos específicos, estos hongos pueden convertir los metales pesados en formas menos tóxicas o incluso eliminarlos completamente del entorno, contribuyendo así a la seguridad alimentaria. La investigación en este campo se ha centrado en la identificación de cepas con alta tolerancia y capacidad de acumulación de metales pesados, así como en la comprensión de los mecanismos subyacentes que les permiten sobrevivir y prosperar en ambientes contaminados. Se han llevado a cabo estudios detallados para evaluar el potencial de *Pleurotus* en la recuperación de suelos contaminados en diversas áreas, incluyendo zonas agrícolas, industriales y mineras, y su influencia en la calidad y seguridad de los alimentos producidos en estos suelos. La aplicación de *Pleurotus* como agentes biorremediadores en la producción y conservación de alimentos presenta varias ventajas significativas. En primer lugar, ofrece una solución sostenible y respetuosa con el medio ambiente para abordar la contaminación por metales pesados en el suelo, reduciendo la dependencia de métodos de remediación química más invasivos y promoviendo prácticas agrícolas más sostenibles. El presente trabajo se centra en la capacidad de estos hongos para descomponer y transformar los metales pesados y la mejora en la calidad del suelo, promoviendo un entorno más favorable para el crecimiento de cultivos agrícolas y

¹ Tecnológico Nacional de México Campus Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México, CP: 20670.

² Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, México, CP: 20100.

* Autor de correspondencia: pamela.rr@pabellon.tecnm.mx

garantizando la seguridad alimentaria. Este enfoque integrador entre biotecnología y conservación ambiental promete abrir nuevas perspectivas para la agricultura sostenible y la producción de alimentos seguros y saludables.

INTRODUCCIÓN AL POTENCIAL BIORREMIADOR DE *PLEUROTUS*

La contaminación del suelo con metales pesados es un problema ambiental de alcance global, derivado principalmente de actividades industriales, mineras y agrícolas (Masindi & Muedi, 2018). Las actividades industriales, como la fabricación de productos químicos, la metalurgia y la producción de energía, liberan grandes cantidades de metales pesados al medio ambiente a través de emisiones y vertidos; la minería, por su parte, es una fuente significativa de contaminación debido a la extracción y procesamiento de minerales, que a menudo involucra el uso de productos químicos tóxicos y genera residuos que contienen metales pesados; las prácticas agrícolas también contribuyen a este problema mediante el uso de pesticidas y fertilizantes que contienen metales pesados, los cuales se acumulan en el suelo a lo largo del tiempo; estos metales no solo persisten en el ambiente debido a su naturaleza no biodegradable, sino que también pueden movilizarse a través del agua y el aire, extendiendo su impacto a áreas geográficas distantes (Su, 2014; Li et al., 2019). Esta contaminación afecta la salud del suelo, disminuyendo su fertilidad y alterando su estructura, lo que a su vez impacta negativamente en la productividad agrícola y la biodiversidad del ecosistema. La presencia de metales pesados en el suelo también representa un riesgo para la salud humana, ya que pueden entrar en la cadena alimentaria a través de cultivos contaminados, afectando a las comunidades locales y a los consumidores a nivel global (Huertos & Baena, 2008). Estos contaminantes representan una amenaza significativa para la salud humana y la integridad de los ecosistemas terrestres, debido a su persistencia y toxicidad (Ortiz-Pescador, 2021; Flores-Hernández & Rodríguez-Bernilla, 2022). En este contexto, la búsqueda de soluciones efectivas y sostenibles ha llevado a investigar el potencial de organismos vivos, como los hongos del género *Pleurotus*, como agentes biorremediadores.

Los hongos del género *Pleurotus*, reconocidos por su capacidad para degradar una amplia gama de sustratos orgánicos, han emergido como candidatos prometedores en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Su capacidad inherente para colonizar y metabolizar contaminantes químicos ha sido objeto de numerosos estudios científicos y aplicaciones prácticas en entornos contaminados (Parte et al., 2017; Bayas-Tiñe & López-Bermello, 2017). Por ejemplo, investigaciones recientes han demostrado que *Pleurotus ostreatus* es capaz de acumular y transformar metales pesados como el plomo, cadmio y mercurio en formas menos tóxicas, como complejos orgánico-metalados, a través de la acción de enzimas antioxidantes y quelantes (Vaseem et al., 2017; Vallejo-Aguilar et al., 2021).

La eficacia de *Pleurotus* como biorremediadores se ha evidenciado en diversos contextos. En una mina abandonada contaminada con plomo y cadmio, la aplicación de *Pleurotus eryngii* resultó en una

notable reducción de las concentraciones de metales pesados en el suelo, facilitando la recuperación de la vegetación nativa y la restauración del hábitat (Goligar et al., 2023). Asimismo, en suelos agrícolas contaminados con residuos de pesticidas que contienen metales pesados, la inoculación de *Pleurotus spp.* promovió la descomposición de los compuestos tóxicos y mejoró la calidad del suelo para el cultivo posterior (Fontalvo & Vera, 2017; Hernández-Castellanos et al., 2021).

A pesar de estos avances, la implementación de la biorremediación con *Pleurotus* presenta desafíos significativos. La velocidad de los procesos de remediación, la optimización de las condiciones ambientales y la escala de aplicación son aspectos que requieren atención continua. Sin embargo, con la investigación y el desarrollo tecnológico adecuados, es posible superar estas barreras y aprovechar plenamente su potencial como herramientas efectivas en la gestión de la contaminación por metales pesados en suelos (Gupta, 2014; Kapahi & Sachdeva, 2017).

Pleurotus ofrece una perspectiva estupenda en la búsqueda de soluciones innovadoras y sostenibles para la remediación de suelos contaminados con metales pesados; su capacidad para tolerar, acumular y transformar estos contaminantes representa un valioso recurso en la restauración ambiental y la protección de la salud pública (Zhao et al., 2017). Sin embargo, se requiere un enfoque multidisciplinario y colaborativo para abordar los desafíos técnicos y logísticos asociados con la implementación de esta tecnología en escala.

CAPACIDAD DEL GENERO *PLEUROTUS* EN LA BIORREMEDIACIÓN

La comprensión detallada de los procesos mediante los cuales los hongos del género *Pleurotus* absorben, acumulan y biotransforman metales pesados en el suelo es esencial para desentrañar los mecanismos de la biorremediación y la ecología microbiana del suelo. A continuación se ahondará en los mecanismos bioquímicos subyacentes a esta característica, abordando los aspectos moleculares y fisiológicos de la interacción entre *Pleurotus* y los metales pesados en el entorno del suelo.

La absorción de metales pesados por parte de *Pleurotus* se inicia mediante un complejo proceso de interacción entre las hifas del hongo y los contaminantes presentes en el suelo. Las hifas, con su estructura micelial altamente ramificada y su superficie ricamente texturizada, actúan como un sitio de adsorción primario para los metales pesados (Marín-Castro et al., 2015). Los grupos funcionales presentes en la pared celular y la membrana plasmática de las hifas, como los grupos carboxilo y amino, interactúan electrostáticamente con los iones metálicos, facilitando su captura y transporte hacia el interior de la célula fúngica (Cañizares-Villanueva, 2000; Beltrán-Pineda & Gómez-Rodríguez, 2016). Una vez absorbidos, los metales pesados son acumulados y almacenados dentro de la biomasa; este proceso de acumulación se lleva a cabo principalmente en las vacuolas intracelulares, estructuras especializadas que actúan como reservorios de metales pesados en la célula (Kapahi & Sachdeva, 2017; Wang et al., 2019). Los metales pesados son acomplejados por ligandos orgánicos y proteínas de unión, reduciendo su toxicidad y

movilidad dentro del sistema biológico (Sharma et al., 2021). Por otro lado, la biotransformación de metales pesados en formas menos tóxicas es el resultado de una serie de procesos bioquímicos complejos, coordinados por enzimas específicas producidas por *Pleurotus*. Estas enzimas, que incluyen peroxidasas, catalasas y metalotioneínas, catalizan reacciones de oxidación-reducción y quelación que convierten los metales pesados en complejos orgánico-metalados o formas insolubles, que son menos biodisponibles y, por lo tanto, menos peligrosas para el medio ambiente y la salud humana (Mohamadhasani & Rahimi, 2022; El-Sayed et al., 2022) (Figura 1).

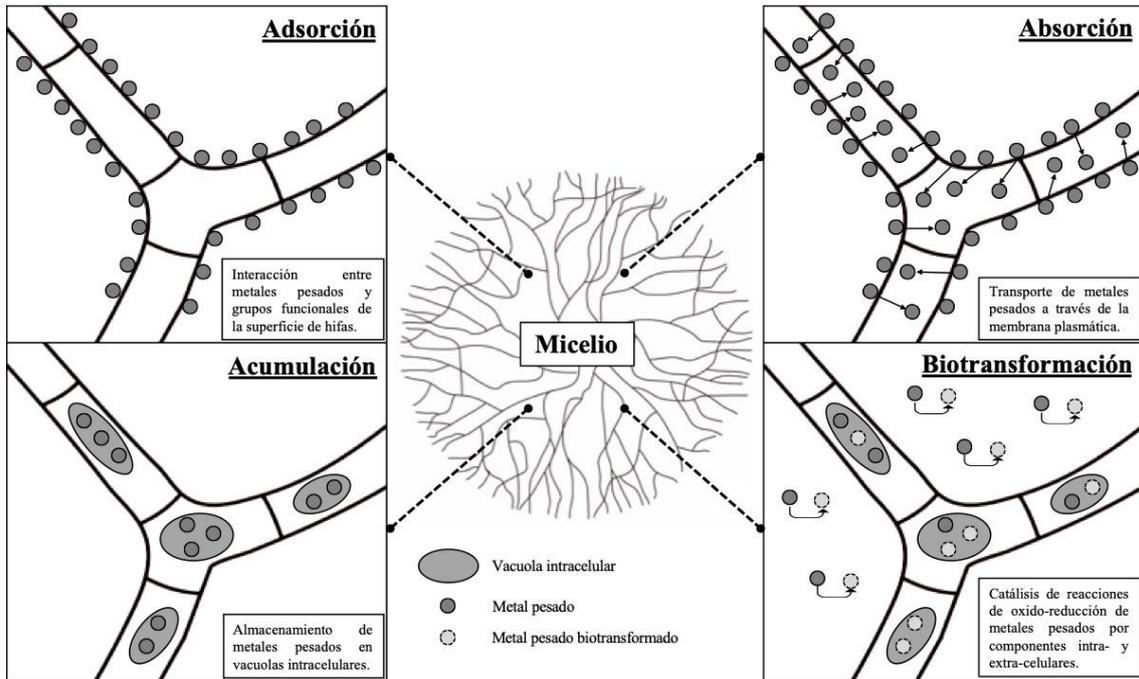


Figura 1. Resumen esquemático de los principales mecanismos de interacción entre *Pleurotus* y metales pesados.

La investigación sobre las cepas específicas de hongos del género *Pleurotus* con alta tolerancia y capacidad de acumulación de metales pesados ha revelado una diversidad sorprendente en las respuestas fisiológicas y bioquímicas de estos organismos; se han identificado cepas adaptadas a condiciones extremas de contaminación por metales pesados, que exhiben una capacidad excepcional para resistir, absorber y biotransformar estos contaminantes (Li, 2017). También se ha revelado la importancia de la plasticidad genética y la adaptación evolutiva en la respuesta de *Pleurotus* a la contaminación por metales pesados; se han observado variaciones significativas en la expresión génica y la actividad enzimática entre diferentes cepas y especies de *Pleurotus*, lo que sugiere una diversidad genética que puede ser explotada para mejorar la eficacia de la biorremediación en suelos contaminados (Huang et al., 2022). El análisis detallado de los mecanismos subyacentes a estas adaptaciones proporciona información valiosa para el desarrollo de estrategias de biorremediación más efectivas y específicas.

La exploración detallada de cómo *Pleurotus* absorben, acumulan y biotransforman metales pesados en formas menos tóxicas en el suelo revela un intrincado y fascinante entramado de procesos bioquímicos y fisiológicos. Esta comprensión profunda no solo contribuye al avance de la ciencia básica, sino que también ofrece nuevas perspectivas para el diseño y la implementación de estrategias de biorremediación efectivas y sostenibles en la gestión de la contaminación por metales pesados en los ecosistemas terrestres.

APLICACIONES BIORREMEDIADORAS EN DIFERENTES CONTEXTOS

El potencial uso del género *Pleurotus* en la recuperación de suelos contaminados es un campo en constante evolución, con aplicaciones prometedoras en diversos sectores, incluyendo la agricultura, la industria y la minería. Al examinar los avances en esta área, desde los estudios de laboratorio hasta las aplicaciones prácticas en el terreno, destaca el papel crucial que *Pleurotus* pueden desempeñar en la restauración de la calidad del suelo y la protección del medio ambiente. Estos hongos no solo tienen la capacidad de descomponer compuestos orgánicos complejos, sino también de absorber y acumular metales pesados, lo que los convierte en una herramienta valiosa para la biorremediación. Además, su cultivo es relativamente sencillo y económico, lo que facilita su implementación a gran escala.

Estudios que evalúan la capacidad de diferentes cepas de hongos *Pleurotus* para descontaminar suelos con altas concentraciones de metales pesados (Frazar, 2000), compuestos orgánicos tóxicos y otros contaminantes (Yadav et al., 2021), han demostrado consistentemente su capacidad para tolerar, absorber y biotransformar una amplia gama de contaminantes, convirtiéndolos en formas menos tóxicas y más estables en el suelo. A partir de estos estudios, se han llevado a cabo investigaciones a mayor escala para evaluar el potencial uso de *Pleurotus* en la recuperación de suelos contaminados en entornos reales (Hidalgo et al., 2023).

En el sector agrícola, por ejemplo, se han realizado estudios de campo para investigar el efecto de la inoculación de *Pleurotus* en la mejora de la calidad del suelo en áreas afectadas por el uso intensivo de agroquímicos y la acumulación de metales pesados (Ab-Rhman et al., 2021; Hu et al., 2021). Además, se ha explorado el uso de biorreactores como una solución innovadora y eficiente para la biorremediación de suelos contaminados. Los biorreactores permiten un control preciso de las condiciones ambientales, como la temperatura, la humedad y el pH, optimizando así la actividad metabólica de los hongos *Pleurotus*. En estos sistemas, los suelos contaminados se mezclan con sustratos enriquecidos con nutrientes que favorecen el crecimiento de los hongos, facilitando la descomposición de contaminantes orgánicos y la absorción de metales pesados. Los biorreactores pueden ser diseñados para tratar grandes volúmenes de suelo de manera continua, lo que los hace ideales para aplicaciones a escala industrial y agrícola. Esta tecnología no solo mejora la eficiencia del proceso de biorremediación, sino que también reduce el tiempo necesario para la recuperación del suelo, ofreciendo una solución sostenible y económicamente viable

para mitigar la contaminación del suelo y restaurar su fertilidad y funcionalidad ecológica (Steffen & Toumela, 2011).

En la industria, *Pleurotus* han sido considerados como una herramienta viable para la biorremediación de suelos contaminados en áreas cercanas a instalaciones industriales, donde se han liberado contaminantes químicos como solventes, aceites y productos petroquímicos (Mohammadi-Sichani et al., 2019). Estudios han demostrado que su aplicación puede reducir significativamente las concentraciones de contaminantes en el suelo, restaurando así su calidad y promoviendo la recuperación de la vegetación nativa (Hidalgo et al., 2024). En el sector minero han mostrado un gran potencial para la rehabilitación de áreas afectadas por la actividad minera, donde la contaminación por metales pesados es un problema común, se ha demostrado que la inoculación de *Pleurotus* puede acelerar la descomposición de los residuos mineros, contribuyendo así a la restauración de los ecosistemas y la mitigación de los impactos ambientales negativos (Hu et al., 2021) (Figura 2).

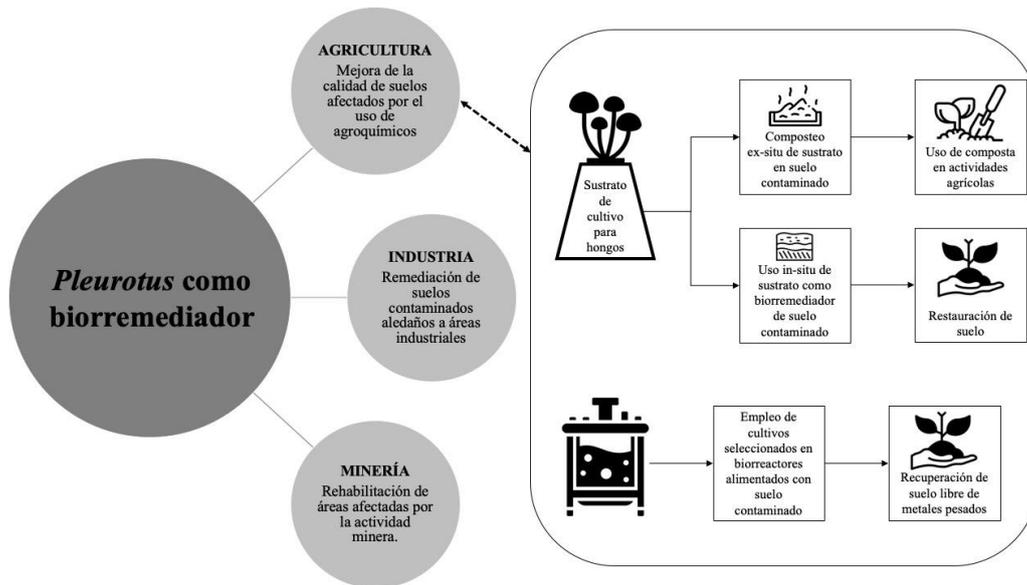


Figura 2. Esquema del potencial biorremediador del género *Pleurotus* en los contextos agrícola, industrial y minero, con énfasis en las estrategias para la mejora de suelos agrícolas.

Los estudios sobre el uso potencial de *Pleurotus* en la recuperación de suelos contaminados en diversas áreas son un testimonio del poder transformador de la biotecnología en la protección del medio ambiente. A medida que continuamos explorando y desarrollando nuevas aplicaciones para estos increíbles organismos, es evidente que *Pleurotus* tienen un papel crucial que desempeñar en la construcción de un futuro más limpio y sostenible.

IMPACTO EN LA PRODUCCIÓN Y CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

La aplicación de hongos del género *Pleurotus* como agentes biorremediadores en la recuperación de suelos contaminados no solo tiene el potencial de restaurar la salud del suelo y proteger el medio

ambiente, sino que también puede tener impactos significativos en la producción de alimentos y en la conservación de los recursos naturales. Esto implica la discusión de los múltiples beneficios y desafíos asociados con el uso de *Pleurotus* en la gestión de la calidad del suelo y su influencia en la producción agrícola y la conservación de la biodiversidad.

En primer lugar, la aplicación de *Pleurotus* como agentes biorremediadores puede mejorar la calidad del suelo al reducir la concentración de metales pesados que pueden ser perjudiciales para la salud de las plantas y la vida del suelo; al transformarlos en formas menos tóxicas y más estables, *Pleurotus* ayudan a restablecer el equilibrio químico y biológico del suelo, creando un ambiente propicio para el crecimiento de plantas saludables y la diversidad microbiana (Tomer et al., 2021). Además, la presencia *Pleurotus* en el suelo puede influir positivamente en la producción de alimentos al mejorar la disponibilidad de nutrientes y promover un mejor desarrollo de las plantas (Ritota & Manzi, 2019; Tomer et al., 2021); estos tienen la capacidad de descomponer materia orgánica y liberar nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio, que son esenciales para el crecimiento de las plantas y su actividad enzimática puede mejorar la estructura del suelo y aumentar su capacidad de retención de agua y nutrientes, lo que beneficia directamente a los cultivos agrícolas (Zainol et al., 2017, Bellettini et al., 2019; Muswati et al., 2021). Por otro lado, la aplicación de *Pleurotus* como agentes biorremediadores también puede contribuir a la conservación de la biodiversidad y los ecosistemas naturales al reducir los impactos negativos de la contaminación del suelo en la flora y fauna silvestres; al restaurar la salud del suelo y promover la recuperación de la vegetación nativa estos hongos ayudan a crear hábitats más saludables y resistentes a largo plazo, lo que beneficia a una variedad de especies de plantas y animales (Hu et al., 2021; Malik et al., 2021).

Sin embargo, es importante tener en cuenta que la aplicación de *Pleurotus* como agentes biorremediadores también plantea desafíos y consideraciones éticas. La seguridad alimentaria, la selección adecuada de cepas fúngicas, los efectos a largo plazo en el suelo y la regulación ambiental son aspectos que deben abordarse cuidadosamente para garantizar que los beneficios de esta tecnología superen los posibles riesgos y limitaciones (Sekan et al., 2019). *Pleurotus* como agentes biorremediadores tienen el potencial de mejorar significativamente la calidad del suelo, influir en la producción de alimentos y contribuir a la conservación de los recursos naturales. A medida que continuamos explorando y desarrollando nuevas aplicaciones para esta tecnología innovadora, es fundamental adoptar un enfoque holístico y colaborativo que tenga en cuenta tanto los beneficios como los desafíos asociados con su implementación en diferentes contextos agrícolas y ambientales.

CONCLUSION: VENTAJAS Y PERSPECTIVAS FUTURAS EN AGRICULTURA SOSTENIBLE

La aplicación de hongos del género *Pleurotus* en la biorremediación ofrece una serie de ventajas significativas que van más allá de la simple descontaminación del suelo, con implicaciones importantes

para la agricultura sostenible y la seguridad alimentaria. Este análisis examina detalladamente estas ventajas y explora las perspectivas futuras de esta tecnología innovadora en la promoción de sistemas agrícolas más resilientes y seguros para el futuro.

En primer lugar, la utilización de *Pleurotus* en la biorremediación presenta ventajas únicas en términos de eficacia y sostenibilidad. Estos hongos tienen la capacidad de absorber, acumular y biotransformar una amplia gama de contaminantes químicos y metales pesados en el suelo, lo que resulta en una remediación efectiva y de bajo costo en comparación con los métodos convencionales. Además, son organismos naturales y no invasivos que se integran fácilmente en los ecosistemas existentes, minimizando los impactos ambientales negativos asociados con la remediación química o mecánica. Estos hongos también ofrecen beneficios adicionales para la agricultura sostenible y la seguridad alimentaria ya que tienen la capacidad única de descomponer materia orgánica y liberar nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y potasio en el suelo, lo que mejora la fertilidad y la estructura del suelo y promueve el crecimiento saludable de los cultivos; su actividad enzimática puede aumentar la biodisponibilidad de nutrientes para las plantas, lo que resulta en un mayor rendimiento de los cultivos y una mayor resistencia a enfermedades y condiciones adversas.

Desde una perspectiva futura, el uso de *Pleurotus* en la biorremediación tiene el potencial de transformar los sistemas agrícolas hacia modelos más sostenibles y resilientes. Al promover la salud del suelo y reducir la dependencia de fertilizantes y productos químicos sintéticos, estos pueden ayudar a mitigar los impactos negativos de la agricultura intensiva en el medio ambiente y la salud humana; al mejorar la calidad del suelo y aumentar la productividad de los cultivos, esta tecnología puede contribuir significativamente a la seguridad alimentaria global, proporcionando alimentos nutritivos y de calidad a una población en crecimiento.

En conclusión, el análisis de las ventajas de utilizar *Pleurotus* en la biorremediación revela un potencial significativo para promover la sostenibilidad ambiental y la seguridad alimentaria en el futuro. Al integrar esta tecnología innovadora en los sistemas agrícolas existentes y adoptar un enfoque holístico hacia la gestión del suelo y los recursos naturales, podemos crear un futuro más resiliente y seguro para las generaciones venideras.

AGRADECIMIENTOS

Los autores extienden un agradecimiento al Fondo Estatal de Innovación Tecnológica 2024 del Estado de Aguascalientes, México, por su apoyo para desarrollar este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

Ab Rhaman, S. M. S., Naher, L., & Siddiquee, S. (2021). Mushroom quality related with various substrates' bioaccumulation and translocation of heavy metals. *Journal of Fungi*, 8(1), 42.

- Bayas Tiñe, F. R., & López Bermello, A. D. (2017). Comparación de la efectividad del hongo *Pleurotus ostreatus* y *Trichoderma harzianum* en la disminución de concentración de metales pesados en lodos de lixiviación de un relleno sanitario (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).
- Bellettini, M. B., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Teixeira, G. L., Ávila, S., Hornung, P. S., Júnior, A. M. & Ribani, R. H. (2019). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 633-646.
- Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172-197.
- Cañizares-Villanueva, R. O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana De Microbiología-Mexico*, 42(3), 131-143.
- El-Sayed, M. T., Ezzat, S. M., Taha, A. S., & Ismaiel, A. A. (2022). Iron stress response and bioaccumulation potential of three fungal strains isolated from sewage-irrigated soil. *J Appl Microbiol*, 132, 1936-1953.
- Flores Hernández, Y. L., & Rodríguez Bernilla, M. (2022). Modelos usados en fitorremediación de metales pesados en suelo, revisión sistemática, 2022.
- Fontalvo, J. L., & Vera, S. (2017). Biodegradación de toxafeno por hongos de la pudrición blanca. *Suelos Ecuatoriales*, 47(1 y 2), 72-77.
- Frazar, C. (2000). *The bioremediation and phytoremediation of pesticide-contaminated sites* (p. 55). Washington, DC: US Environmental Protection Agency.
- Goligar, N., Saadatmand, S., & Khavarinejad, R. A. (2023). Mycoremediation of lead and cadmium by lignocellulosic enzymes of *Pleurotus eryngii*. *AMB Express*, 13(1), 127.
- Gupta, R. K. (2014). *Bioremediation of Heavy Metals through Cultivated and Wild Mushroom* (Doctoral dissertation, MPUAT, Udaipur).
- Hernández Castellanos, J. L., Cuervo González, R., Montañez Soto, J. L., Hernández Castellanos, N. D., Pérez Vargas, M. A., Cruz Hernández, A., & Chaires Martínez, L. (2021). Biodegradación de plaguicidas organofosforados y organoclorados por *Candida tropicalis* y *Stenotrophomonas maltophilia* en microcosmos del suelo. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 37.
- Hidalgo, J., Artetxe, U., Becerril, J. M., Gomez-Sagasti, M. T., Epelde, L., Vilela, J., & Garbisu, C. (2024). Biological remediation treatments improve the health of a mixed contaminated soil before significantly reducing contaminant levels. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(4), 6010-6024.
- Hidalgo, J., Epelde, L., Anza, M., Becerril, J. M., & Garbisu, C. (2023). Mycoremediation with *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* growth substrates versus phytoremediation with *Festuca rubra*

- and Brassica sp. for the recovery of a Pb and γ -HCH contaminated soil. *Chemosphere*, 327, 138538.
- Hu, Y., Mortimer, P. E., Hyde, K. D., Kakumyan, P., & Thongklang, N. (2021). Mushroom cultivation for soil amendment and bioremediation. *Circular Agricultural Systems*, 1(1), 1-14.
- Huang, X. H., Xu, N., Feng, L. G., Lai, D. N., Wu, F., Xu, D., & Guo, X. (2022). The Activity and Gene Expression of Enzymes in Mycelia of *Pleurotus Eryngii* under Cadmium Stress. *Sustainability*, 14(7), 4125.
- Huertos, E. G., & Baena, A. R. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. *MACLA, revista de la Sociedad Española de Mineralogía*, 10, 48-60.
- Kapahi, M., & Sachdeva, S. (2017). Mycoremediation potential of *Pleurotus* species for heavy metals: a review. *Bioresources and bioprocessing*, 4(1), 32.
- Li, X., Wang, Y., Pan, Y., Yu, H., Zhang, X., Shen, Y., Jiao, S., Wu, K., La, G., Yuan, Y. & Zhang, S. (2017). Mechanisms of Cd and Cr removal and tolerance by macrofungus *Pleurotus ostreatus* HAU-2. *Journal of hazardous materials*, 330, 1-8.
- Li, C., Zhou, K., Qin, W., Tian, C., Qi, M., Yan, X., & Han, W. (2019). A review on heavy metals contamination in soil: effects, sources, and remediation techniques. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 28(4), 380-394.
- Malik, N. A., Kumar, J., Wani, M. S., Tantray, Y. R., & Ahmad, T. (2021). Role of Mushrooms in the Bioremediation of Soil. *Microbiota and Biofertilizers, Vol 2: Ecofriendly Tools for Reclamation of Degraded Soil Environs*, 77-102.
- Marín-Castro, M., Tamaríz, V., Castelán, R., & Linares, G. (2015). Isotermas de adsorción de Pb y Cr por la biomasa de tres cepas del hongo de la pudrición blanca *Pleurotus* spp.
- Masindi, V., & Muedi, K. L. (2018). Environmental contamination by heavy metals. *Heavy metals*, 10(4), 115-133.
- Mohamadhasani, F., & Rahimi, M. (2022). Growth response and mycoremediation of heavy metals by fungus *Pleurotus* sp. *Scientific Reports*, 12(1), 19947.
- Mohammadi-Sichani, M. E., Mazaheri Assadi, M., Farazmand, A., Kianirad, M., Ahadi, A. M., & Hadian-Ghahderijani, H. (2019). Ability of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* compost in biodegradation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. *International journal of environmental science and technology*, 16, 2313-2320.
- Muswati, C., Simango, K., Tapfumaneyi, L., Mutetwa, M., & Ngezimana, W. (2021). The effects of different substrate combinations on growth and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *International Journal of Agronomy*, 2021(1), 9962285.
- Ortiz Pescador, J. J. (2021). Bioprospección de biosurfactantes con aplicaciones ambientales, revisión del estado del arte periodo 2010–2020.

- Parte, S. G., Mohekar, A. D., & Kharat, A. S. (2017). Microbial degradation of pesticide: a review. *African journal of microbiology research*, 11(24), 992-1012.
- Ritota, M., & Manzi, P. (2019). *Pleurotus* spp. cultivation on different agri-food by-products: Example of biotechnological application. *Sustainability*, 11(18), 5049.
- Sekan, A. S., Myronycheva, O. S., Karlsson, O., Gryganskyi, A. P., & Blume, Y. (2019). Green potential of *Pleurotus* spp. in biotechnology. *PeerJ*, 7, e6664.
- Sharma, P., Pandey, A. K., Udayan, A., & Kumar, S. (2021). Role of microbial community and metal-binding proteins in phytoremediation of heavy metals from industrial wastewater. *Bioresource technology*, 326, 124750.
- Steffen, K., & Tuomela, M. (2011). Fungal soil bioremediation: developments towards large-scale applications. *Industrial Applications*, 451-467.
- Su, C. (2014). A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques. *Environmental Skeptics and Critics*, 3(2), 24.
- Tomer, A., Singh, R., Singh, S. K., Dwivedi, S. A., Reddy, C. U., Keloth, M. R. A., & Rachel, R. (2021). Role of fungi in bioremediation and environmental sustainability. *Mycoremediation and Environmental Sustainability: Volume 3*, 187-200.
- Vallejo Aguilar, M. D. L. L. A., Marín Castro, M. A., Ramos Cassellis, M. E., Silva Gómez, S. E., Ibarra Cantún, D., & Tamariz Flores, J. V. (2021). Biosorción y tolerancia de Pb, Cr y Cd por la biomasa de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) P. Kumm. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(2), 275-289.
- Vaseem, H., Singh, V. K., & Singh, M. P. (2017). Heavy metal pollution due to coal washery effluent and its decontamination using a macrofungus, *Pleurotus ostreatus*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 145, 42-49.
- Wang, Y., Yi, B., Sun, X., Yu, L., Wu, L., Liu, W., Wang, D., Li, Y., Jia, R., Yu, H. & Li, X. (2019). Removal and tolerance mechanism of Pb by a filamentous fungus: a case study. *Chemosphere*, 225, 200-208.
- Yadav, P., Rai, S. N., Mishra, V., & Singh, M. P. (2021). Mycoremediation of environmental pollutants: A review with special emphasis on mushrooms. *Environmental Sustainability*, 1-14.
- Yang, S., Sun, X., Shen, Y., Chang, C., Guo, E., La, G., Zhao, Y. & Li, X. (2017). Tolerance and removal mechanisms of heavy metals by fungus *Pleurotus ostreatus* Haas. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228, 1-9.
- Zainol, N., Ameen, M. F. M., Rahman, S. A., Rinalto, M. A., & Nor, N. S. M. (2017). Factorial Analysis on Processing Factors for Nitrogen, Phosphorus and Potassium Contents in Mushroom Waste. *Journal of Chemical Engineering and Industrial Biotechnology*, 1(1), 42-56.

El papel de las bacterias quitinolíticas en interacciones planta-patógeno y su potencial empleo biotecnológico en la agricultura

Recibido en: 16/06/2024

Aprobado en: 20/06/2024

 10.46420/9786585756365cap6

Jesús Eduardo Cazares Álvarez¹ 

Ignacio Eduardo Maldonado Mendoza^{1*} 

RESUMEN

Dentro de la industria agrícola se han utilizado diversas herramientas de mejora para el crecimiento de plantas de importancia comercial. Sin embargo, algunas de estas herramientas involucran el uso de compuestos químicos sintéticos que por lo general son de alto costo, tienen efectos a largo plazo y además pueden ser perjudiciales para la salud. Generalmente, el empleo de fertilizantes químicos es una de las primeras opciones que utiliza el agricultor debido a la rápida aplicación y fácil acceso, pero cabe destacar que el uso indiscriminado de estos químicos puede traer consecuencias trascendentales en el microbiota del suelo. Debido a la alta demanda de cultivos para la alimentación humana, el uso de herramientas químicas ha ido en aumento y sobre todo para poder controlar organismos patógenos, por lo tanto, el empleo de alternativas sustentables se ha convertido en una meta a alcanzar para la comunidad científica. Una de estas opciones es el uso de organismos benéficos que sean capaces de tener un efecto en el crecimiento y desarrollo de la planta, además de poder controlar diversas enfermedades. Las bacterias quitinolíticas desempeñan un rol fundamental en el ciclo de carbono del suelo, además de que pueden interactuar directamente con las raíces de las plantas para beneficiarse mutuamente. Las quitinasas, producidas por las bacterias quitinolíticas, han demostrado poder controlar a diversos organismos fitopatógenos de manera directa (mediante nanotecnología) o indirecta (utilizando bioformulados de la bacteria), por lo que el uso de este tipo de bacterias en el ámbito agrícola se ha convertido en una alternativa ideal al uso indiscriminado de compuestos químicos.

¹ Departamento de Biotecnología Agrícola, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR), Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional, Guasave, Sinaloa, México.

* Autor(a) correspondiente: imaldona@ipn.mx

DISTRIBUCIÓN DE LA QUITINA EN LA NATURALEZA

La quitina, después de la celulosa, es uno de los principales polímeros presentes en la naturaleza. Este compuesto puede ser sintetizado por diversos organismos como camarones, cangrejos, insectos y hongos (Kumar, 2000). La quitina está compuesta por unidades de N-acetil-D-glucosamina unida por enlaces β -1,4 glucosídicos; tiene una coloración blanca, incolora y no es elástica. Además de estar ampliamente distribuida en la naturaleza, también puede encontrarse en formas diversas como α , β y γ , y esto depende muchas veces del organismo (Blackwell, 1988). La forma más común es la α -quitina y su estructura está conformada por dos unidades de N, N'-diacetilquitobiosa formando dos cadenas en una composición antiparalela, además los anillos hidrofóbicos de los carbohidratos se apilan uno encima del otro (Beckham & Crowley, 2011). Debido a su sencilla composición, esta forma de quitina puede encontrarse en la mayoría de los organismos quitinolíticos como, por ejemplo: cangrejos, langostas y en la pared celular de hongos (Hou et al., 2021).

Por otra parte, la β -quitina es una forma que no se encuentra de manera abundante en comparación con la α -quitina, sin embargo, la β -quitina contiene menos enlaces de hidrógeno adicionales entre las cadenas que unen a los grupos hidroximetilo y todas las cadenas en su estructura están en la misma dirección y son paralelas (Roy et al., 2017). Esta forma de quitina se ha encontrado en calamares (Arrouze et al., 2021; Lavall et al., 2007) y en capullos de insectos (Eisemann & Binnigton, 1994). Con respecto a la γ -quitina, esta tiene una estructura química similar a la α -quitina y se puede encontrar en las fibras del capullo del escarabajo *Ptinus* (Kaya et al., 2017), es un poco más difícil de encontrar y analizar, por lo que su uso es limitado.

USOS TECNOLÓGICOS DE LA QUITINA

Gracias al avance tecnológico y a las amplias posibilidades de poder aislar quitina de diversos organismos, los usos y aplicaciones de la quitina han ido aumentando con el paso de los años. Los principales organismos de los cuales se ha aislado quitina han sido insectos, crustáceos y camarones, utilizando diversos métodos de extracción como el uso de ácido clorhídrico, ácido acético y ácido nítrico, además del uso de enzimas líticas (Younes & Rinauro, 2015). Sin embargo, ha sido posible utilizar otras técnicas de extracción físicas como el uso de ondas ultrasónicas (Vallejo-Domínguez et al., 2021) con el fin de evitar el uso excesivo de químicos nocivos para el medio ambiente. La quitina, además de ser abundante en la naturaleza, es un compuesto no tóxico y biodegradable, por lo que su uso en diversas industrias es amplio. Por ejemplo, en la industria alimentaria, se ha considerado el uso de quitina aislado de organismos marinos como compuestos nutraceuticos (Šimat, 2021) o la utilización de quito-oligosacáridos derivados de la quitina como prebióticos en alimentos (Harti et al., 2015). Sin embargo, el uso de la quitina se extiende de manera amplia en la industria farmacéutica para la curación de heridas

superficiales (Mattioli-Belmonte et al., 2007), como acarreador de algunos medicamentos (Wang et al., 2011) e incluso en la generación de huesos (Kawata et al., 2016).

Por otra parte, en la industria agrícola, la quitina ha tenido un auge en los últimos años debido a su uso como fertilizante en forma de nanopartículas que pueden liberar compuestos útiles para las plantas, además que el uso de quitina o derivados podría ayudar a activar sistemas de defensa contra algunos patógenos (Shamshina et al., 2020). Esta activación lleva consigo la posibilidad de que la planta pueda producir enzimas que sean capaces de hidrolizar la quitina (quitinasas); los fragmentos de quitina liberados por las quitinasas pueden fungir como moléculas de señalización para la planta, lo que podría inducir mecanismos de crecimiento, defensa, síntesis de fitoalexinas e inducción de otras proteasas (Li et al., 2020).

QUITINASAS

Las enzimas que hidrolizan la quitina reciben el nombre de quitinasas (E.C.3.2.2.14) las cuales hidrolizan enlaces β -1,4 de la estructura de la quitina liberando compuestos de bajo o alto peso molecular. Pueden encontrarse en diversos organismos desde bacterias hasta en humanos y pueden ejercer diferentes funciones en la célula (Bhattacharyya & Jha, 2012). Se pueden clasificar en diferentes familias o clases dependiendo de su estructura aminoacídica o la presencia de dominios y motivos conservados (Oyeleye & Normi, 2018). Las quitinasas se encuentra agrupadas en familias pertenecientes a las glucosil-hidrolasas, siendo las familias 18, 19 y 20 las más abundantes (Figura 1).

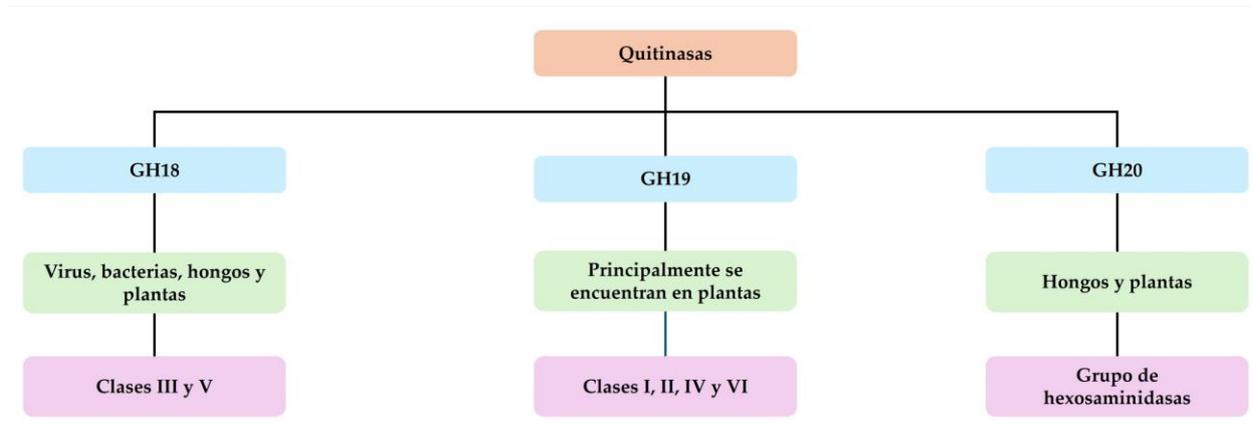


Figura 1. Clasificación de las familias más importantes de las quitinasas.

Así mismo, las quitinasas pueden dividirse dependiendo de su tipo de actividad en dos grupos: endoquitinasas y exoquitinasas. Las endoquitinasas son enzimas que pueden hidrolizar los enlaces β -1,4 de la estructura de la quitina de manera aleatoria en los sitios internos lo que ocasiona que se liberen compuestos de alto peso molecular como quitotriosa o quitotetrosa (Sahai & Manocha, 1993). En cambio, las exoquitinasas son enzimas que hidrolizan los enlaces externos de la cadena liberando monómeros de N-acetil glucosamina o quitobiosas.

En el caso particular de las plantas, las quitinasas pueden estar involucradas en todo el ciclo celular participando en procesos como desarrollo, embriogénesis, respuesta a diferentes tipos de estrés y en la respuesta contra patógenos (Vaghela et al., 2022) y se pueden encontrar en diferentes tejidos como hoja, tallo y raíces, y la mayoría de ellas presentan una actividad de endoquitinasa. El peso molecular de las quitinasas vegetales oscila entre los 20 a los 60 kDa y pueden tener una naturaleza ácida o básica dependiendo de su punto isoeléctrico (Hamid et al., 2013). Son diversos los estudios donde se han aislado quitinasas de plantas con el fin de poder caracterizarlas y utilizarlas para comprobar su efectividad en el control de hongos patógenos. Principalmente las quitinasas vegetales juegan un papel fundamental en el control de los hongos fitopatógenos mediante la hidrólisis de la quitina en la pared celular de hongos, lo que conlleva a la liberación de elicitores (quito-oligosacáridos) que sirven como moléculas de señalización para alertar a la planta de la infección (Zipfel, 2008). Las quitinasas vegetales pueden clasificarse principalmente en la familia 19 de las glicosil-hidrolasas, sin embargo, también pueden encontrarse enzimas pertenecientes a las familias 18 y 20. Dentro de la familia 18 se encuentran las clases III y V mientras que en la familia 19 se encuentran las clases I, II, IV y VI. La diferencia entre las clases difiere principalmente por la presencia de algunos dominios conservados y sitios ricos en cisteína (Vaghela et al., 2022).

BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Debido al aumento de las enfermedades causadas por virus u hongos patógenos en cultivos de importancia agrícola, el uso de organismos antagonistas se ha convertido en una herramienta alternativa al uso de compuestos químicos. Dentro de los organismos que se pueden utilizar en la industria agrícola son las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR). Estas bacterias por lo general son aisladas de la rizósfera de las plantas o de la superficie de las raíces (rizoplano) (Glick, 2012). Las PGPR están estrechamente relacionadas con las plantas en un ciclo constante de estimulación del crecimiento, obtención de nutrientes, fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos y la producción de sideróforos (Souza et al., 2015). Así mismo, algunas bacterias pueden tener la capacidad de ser endófitas a las plantas, esto significa que pueden encontrarse dentro de las células vegetales en algún momento de su ciclo de vida, y tienen una influencia en la producción de compuestos bioactivos como esteroides, terpenoides, proteasas, flavonoides y liberación de compuestos antifúngicos y antibacterianos (Wang et al., 2022) (Figura 2). Los principales compuestos que pueden producir las PGPR son ácido indol-3 acético, enzimas líticas como proteasas, quitinasas o endoglucanasas, sideróforos y antibióticos, los cuales tienen una influencia directa o indirecta en el crecimiento de la planta. Sin embargo, las bacterias endófitas para poder ser utilizadas en cultivos de importancia agrícola, es necesario la utilización de sistemas de caracterización funcional para estas bacterias; por ejemplo, la comprobación de su posible patogenicidad al humano, producción de compuestos relacionados a la promoción del crecimiento vegetal, su efecto

contra fitopatógenos, su eficacia *in vitro*, invernadero y campo, y la verificación del endofitismo (Basit et al., 2021).

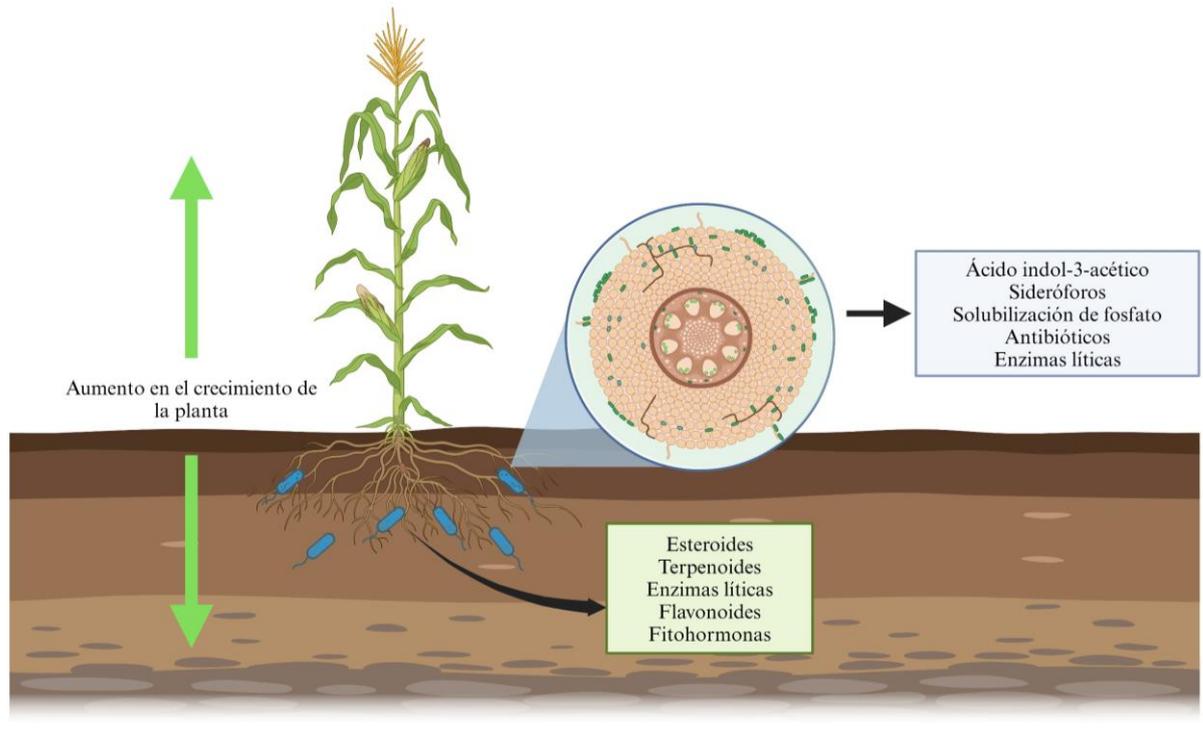


Figura 2. Beneficios de las PGPR en la planta y los compuestos que produce. Los organismos se encuentran en la rizosfera o en las raíces de las plantas las cuales tienen un efecto directo o indirecto en el crecimiento del cultivo. Pueden ser aislados del suelo o de las raíces de las plantas para comprobar su función como promotoras de crecimiento vegetal. Figura creada con Biorender.com

MICROORGANISMOS QUITINOLÍTICOS

Uno de los principales mecanismos de las PGPR es la producción de quitinasas. Estas enzimas juegan un papel fundamental en el control de hongos fitopatógenos en algunos cultivos agrícolas. Han sido amplios los estudios de aislamiento y caracterización de organismos aislados de la rizósfera de plantas, por ejemplo, Brzezinska et al. (2020) aislaron bacterias de la rizósfera del trigo (*Triticum aestivum* L.) donde dos cepas, B3 y B5, identificadas como *Bacillus*, podían producir quitinasas las cuales tuvieron un efecto en el crecimiento de *Alternaria alternata* y *Fusarium verticillioides*. A partir de la rizósfera del maíz, se han obtenido diversos organismos quitinolíticos, por ejemplo, *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, los cuales pudieron degradar el micelio de hongos como *Fusarium* y *Alternaria* (Medina-de la Rosa et al., 2016). Así mismo, algunas cepas de *Bacillus* que fueron aisladas de la rizósfera del maíz han tenido la capacidad de controlar al hongo *Fusarium verticillioides* (Bressan & Figueiredo, 2010). La aplicación de la bacteria quitinolítica *Bacillus cereus* B25 (Morales-Ruiz et al., 2021) en cultivos de maíz, ocasionó un aumento en el rendimiento de grano de hasta 2 toneladas/hectárea en comparación con los cultivos afectados por *F. verticillioides* y se obtuvo una disminución en la concentración de las toxinas fúngicas

(fumonisinas) que produce este hongo en hasta el 93% en cultivos tratados con B25 (Lizárraga-Sánchez et al., 2015). También se han obtenido aislados bacterianos quitinolíticos de cultivos de tomate, donde se ha comprobado su eficacia en el control de algunos hongos patógenos como *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Colletotrichum* y *Aspergillus* (Malik et al., 2022).

Uno de los principales métodos de aplicación de organismos quitinolíticos es mediante bioformulados. Se han utilizado diversos medios de cultivo para el óptimo crecimiento de los organismos, esto es porque para elaborar una correcta formulación es necesario el conocimiento de las estructuras o función de los compuestos activos y las posibles interacciones entre ellos (Somal et al., 2024). Existen dos maneras tradicionales de obtener bioformulados: líquidos y sólidos. La formulación sólida consiste en la utilización de compuestos sólidos en forma de polvo o gránulos como acarreadores orgánicos o inorgánicos dependiendo del organismo a bioformular; la formulación líquida consiste en cultivos bacterianos o fúngicos a los cuales se les añade aditivos o compuestos estabilizantes (Mishra & Arora, 2016). Sin embargo, las formulaciones de organismos (sólido o líquido) han demostrado tener la capacidad de mantener la efectividad de controlar a los patógenos, por ejemplo, en cultivos de pepino, se han utilizado formulados a base de talco que contienen algunos aislados bacterianos, los cuales fueron utilizados en pruebas de crecimiento del cultivo y en el control de *Pythium ultimum* (Khabbaz & Abbasi, 2014). Así mismo, Prabhukarthikeyan et al. (2014), utilizando una formulación a base de talco con cultivos de *Bacillus subtilis* y *Beauveria bassiana*, observaron la disminución de incidencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de tomate.

Por otra parte, se han podido utilizar las quitinasas de los organismos quitinolíticos de manera directa utilizando la nanotecnología, por ejemplo, Dikbaş et al. (2021) utilizaron la técnica de inmovilización de quitinasas con nanopartículas de óxido de zinc para aplicar en granos afectados con *Sitophilus zeamais*. También se ha aplicado nanopartículas que contienen quitinasas de *Bacillus thuringiensis* sobre *Canorhabditis elegans* (Qin et al., 2016). Por lo tanto, la implementación tanto de bioformulados o nanopartículas para el control de patógenos resulta una alternativa ideal al uso de compuestos químicos.

INTERACCIÓN ENTRE PLANTAS-BACTERIAS QUITINOLÍTICAS-HONGOS PATÓGENOS

Una de las razones por la cual la investigación en interacciones planta-microorganismo se inclina por el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, que además de promover el desarrollo de las plantas, puedan producir compuestos antifúngicos o antibacterianos como las quitinasas, es su modo de acción. Durante la interacción entre, por ejemplo, un hongo y una bacteria quitinolítica, se ha comprobado que la bacteria es capaz de inducir la expresión de genes de diferentes mecanismos de antagonismo que ocasionan la reducción del desarrollo micelial del hongo e incluso disminuyen la germinación de conidios (Figueroa-López et al., 2017; Morales-Ruíz et al., 2021; Báez-Astorga et al., 2022). Esto se ha observado en diversos estudios *in vitro* y en invernadero; la bacteria quitinolítica *Bacillus*

thuringiensis demostró tener alta actividad de quitinasas (2.45 U/mg proteína) y un efecto en la disminución del crecimiento de *Curvularia lunata*, *Colletotrichum capsici* y *Fusarium oxysporum* (Chanworawit et al., 2023), así mismo, la utilización del sobrenadante libre de células de *P. chitinolyticus* en plantas de *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* infectadas con *Plasmodiophora brassicae* disminuyó la severidad de la enfermedad en los primeros días de infección (Khodashenas-Rudsari et al., 2024).

Uno de los principales mecanismos de defensa de las plantas es la detección de Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs) (Figura 3). Estos elicitores pueden tener diferente naturaleza tal como: lípidos, proteínas, carbohidratos etc., los cuales fungen un papel importante en la defensa de las plantas (Guo & Cheng, 2022). Como primera instancia, en un ambiente donde se encuentra la planta, hongo y bacterias quitinolíticas, éstas últimas serian capaz de producir sus quitinasas como primer acercamiento al control del hongo patógeno liberando moléculas de la degradación de quitina de su pared celular. Estas moléculas funcionan como elicitores para la planta los cuales son detectados por proteínas transmembranales (PRR) las cuales desencadenan una respuesta de expresión génica a través de la ruta de las MAPK cinasas (activación de la proteína_cinasa activada por mitógenos), esta ruta consiste en una serie de fosforilaciones de proteínas que culmina en la inducción o represión de genes a través de proteínas conocidas como factores transcripcionales (Nicaise et al., 2009). Esta ruta ayuda a la planta a controlar infecciones de patógenos mediante la inducción de mecanismos de defensa, tales como respuesta hipersensible, producción de proteasas, cambios hormonales y muerte celular programada (Feechan et al., 2015).

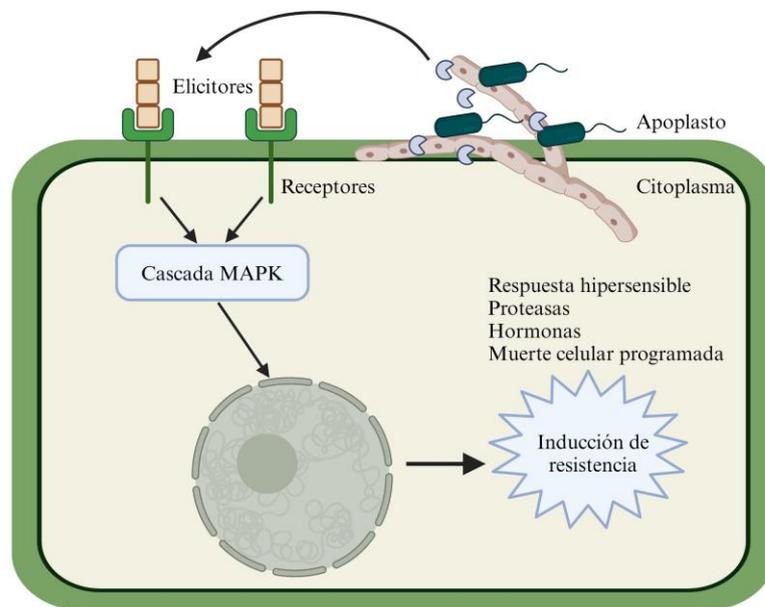


Figura 3. Inducción de mecanismos de defensa de la planta mediante quitinasas. Al detectar a un hongo patógeno las bacterias quitinolíticas utilizarán quitinasas para degradar la quitina en la pared celular del hongo. Estas moléculas llamadas quitina-oligosacáridos, son detectadas por receptores transmembranales, ocasionando que se active la cascada de MAPK quininas induciendo mecanismos de defensa de la planta para poder controlar la infección del patógeno. Figura creada con Biorender.com

CONCLUSIONES

Los cultivos de importancia agrícola se encuentran en constante riesgo debido a diversas enfermedades lo que ocasiona cuantiosas pérdidas económicas. El uso de compuestos químicos ha sido una limitante debido a altos costos y efectos que tienen en la naturaleza. Una de las alternativas son las herramientas biológicas como el uso de formulados a base de organismos promotores de crecimiento vegetal, principalmente organismos que tengan la capacidad de ejercer mecanismos de control sobre hongos fitopatógenos, tales como la producción de quitinasas. Estas enzimas juegan un papel fundamental en la respuesta ante infecciones fúngicas desde la degradación de la pared celular hasta la detección de quitooligosacáridos por la planta, induciendo diversos mecanismos de defensa.

BIBLIOGRAFÍA

- Arrouze, F., Desbrieres, J., Lidrissi Hassani, S., & Tolaimate, A. (2021). Investigation of β -chitin extracted from cuttlefish: comparison with squid β -chitin. *Polymer Bulletin*, 78(12), 7219–7239. <https://doi.org/10.1007/s00289-020-03466-z>
- Báez-Astorga, P. A., Cázares-Álvarez, J. E., Cruz-Mendivil, A., Quiroz-Figueroa, F. R., Sánchez-Valle, V. I., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2022). Molecular and biochemical characterization of antagonistic mechanisms of the biocontrol agent *Bacillus cereus* B25 inhibiting the growth of the phytopathogen *Fusarium verticillioides* P03 during their direct interaction in vitro. *Biocontrol Science and Technology*, 1–21. <https://doi.org/10.1080/09583157.2022.2085662>
- Basit, A., Shah, S. T., Ullah, I., Ullah, I., & Mohamed, H. I. (2021). Microbial bioactive compounds produced by endophytes (bacteria and fungi) and their uses in plant health. In: Mohamed, H.I., EI-Beltagi, H.ED.S., Abd-Elsalam, K.A. (eds) *Plant Growth-Promoting Microbes for Sustainable Biotic and Abiotic Stress Management*. Springer, Champ. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66587-6_11
- Beckham, G. T., & Crowley, M. F. (2011). Examination of the α -Chitin Structure and Decrystallization Thermodynamics at the Nanoscale. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(15), 4516–4522. <https://doi.org/10.1021/jp200912q>
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Blackwell, J. (1988). Physical methods for the determination of chitin structure and conformation. *Methods in Enzymology*, 161(C), 435–442. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)61053-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)61053-6)
- Bressan, W., & Figueiredo, J. (2010). Chitinolytic *Bacillus* spp. isolates antagonistic to *Fusarium moniliforme* in maize. *Journal of Plant Pathology*, 92, 343–347.
- Chanworawit, K., Wangsoonthorn, P., & Deevong, P. (2023). Characterization of chitinolytic bacteria newly isolated from the termite *Microcerotermes* sp. and their biocontrol potential against plant

- pathogenic fungi. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 87(9), 1077–1091. <https://doi.org/10.1093/bbb/zbad080>
- Dikbaş, N., Uçar, S., Tozlu, G., Öznülüer Özer, T., & Kotan, R. (2021). Bacterial chitinase biochemical properties, immobilization on zinc oxide (ZnO) nanoparticle and its effect on *Sitophilus zeamais* as a potential insecticide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(10), 173. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03138-8>
- Eisemann, C. H., & Binnington, K. C. (1994). The peritrophic membrane: Its formation, structure, chemical composition and permeability in relation to vaccination against ectoparasitic arthropods. *International Journal for Parasitology*, 24(1), 15–26. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(94\)90055-8](https://doi.org/10.1016/0020-7519(94)90055-8)
- Feechan, A., Turnbull, D., Stevens, L. J., Engelhardt, S., Birch, P. R. J., Hein, I., & Gilroy, E. M. (2015). The hypersensitive response in PAMP- and effector-triggered immune responses. In *Plant Programmed Cell Death* (pp. 235-268). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-21033-9_10
- Figuroa-López, A. M., Leyva-Madrigal, K. Y., Cervantes-Gámez, R. G., Beltran-Arredondo, L. I., Douriet-Gámez, N. R., Castro-Martínez, C., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2017). Induction of *Bacillus cereus* chitinases as a response to lysates of *Fusarium verticillioides*. *Romanian Biotechnological Letters*, 22(4), 12722–12731.
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Guo, J., & Cheng, Y. (2022). Advances in Fungal Elicitor-Triggered Plant Immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19). <https://doi.org/10.3390/ijms231912003>
- Hamid, R., Khan, M. A., Ahmad, M., Ahmad, M. M., Abdin, M. Z., Musarrat, J., & Javed, S. (2013). Chitinases: An update. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 5(1), 21–29. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.106559>
- Harti, A. S., Haryati, D. S., Sunarto, S., Setyaningsi, W., & Yatmihatun, S. (2015). The potential chito-oligosaccharide (COS) as natural prebiotic and preservatives on symbiotic tofu in Indonesia. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 4(3), 204–208. <https://doi.org/10.18178/ijpmbs.4.3.204-208>
- Hou, J., Aydemir, B. E., & Dumanli, A. G. (2021). Understanding the structural diversity of chitins as a versatile biomaterial. *Philosophical Transactions. Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*, 379(2206), 20200331. <http://doi.org/10.1098/rsta.2020.0331>
- Kawata, M., Azuma, K., Izawa, H., Morimoto, M., Saimoto, H., & Ifuku, S. (2016). Biomineralization of calcium phosphate crystals on chitin nanofiber hydrogel for bone regeneration material. *Carbohydrate Polymers*, 136, 964–969. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.009>

- Kaya, M., Mujtaba, M., Ehrlich, H., Salaberria, A. M., Baran, T., Amemiya, C. T., Galli, R., Akyuz, L., Sargin, I., & Labidi, J. (2017). On chemistry of γ -chitin. *Carbohydrate Polymers*, 176, 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.076>
- Khabbaz, S. E., & Abbasi, P. A. (2014). Isolation, characterization, and formulation of antagonistic bacteria for the management of seedlings damping-off and root rot disease of cucumber. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(1), 25–33. <https://doi.org/10.1139/cjm-2013-0675>
- Khodashenas-Rudsari, M., Zouhar, M., Manasova, M., & Li, T. (2024). Biocontrol potential of cell-free supernatant of *Paenibacillus chitinolyticus* against *Plasmodiophora brassicae* in two important Brassica species. *European Journal of Plant Pathology*, <https://doi.org/10.1007/s10658-024-02885-2>
- Lavall, R. L., Assis, O. B. G., & Campana-Filho, S. P. (2007). β -Chitin from the pens of *Loligo* sp.: Extraction and characterization. *Bioresource Technology*, 98(13), 2465–2472. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.002>
- Li, K., Xing, R., Liu, S., & Li, P. (2020). Chitin and Chitosan Fragments Responsible for Plant Elicitor and Growth Stimulator. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(44), 12203–12211. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05316>
- Lizárraga-Sánchez, G. J., Leyva-Madriral, K. Y., Sánchez-Peña, P., Quiroz-Figueroa, F. R., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2015). *Bacillus cereus sensu lato* strain B25 controls maize stalk and ear rot in Sinaloa, Mexico. *Field Crops Research*, 176, 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.02.015>
- Malik, M. S., Haider, S., Rehman, A., Rehman, S. U., Jamil, M., Naz, I., & Anees, M. (2022). Biological control of fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon esculentum*) by chitinolytic bacterial strains. *Journal of Basic Microbiology*, 62(1), 48–62. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100512>
- Mattioli-Belmonte, M., Zizzi, A., Lucarini, G., Giantomassi, F., G, B., G, T., F, O., Provinciali, M., Francesco, C., & Morganti is the family name, P. is the given name. (2007). Chitin Nanofibrils Linked to Chitosan Glycolate as Spray, Gel, and Gauze Preparations for Wound Repair. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 22, 525–538. <https://doi.org/10.1177/0883911507082157>
- Medina-de la Rosa, G., López-Reyes, L., Carcaño-Montiel, M. G., López-Olgún, J. F., Hernández-Espinosa, M. Á., & Rivera-Tapia, J. A. (2016). Rhizosphere bacteria of maize with chitinolytic activity and its potential in the control of phytopathogenic fungi. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 49(11–12), 310–321. <https://doi.org/10.1080/03235408.2016.1201345>
- Mishra, J., & Arora, N. K. (2016). Bioformulations for plant growth promotion and combating phytopathogens: a sustainable approach. In: Arora, N., Mehnaz, S., Balestrini, R. (eds) *Bioformulations: for Sustainable Agriculture*. Springer, New Delhi. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2779-3_1
- Morales-Ruíz, E., Priego-Rivera, R., Figueroa-López, A. M., Cazares-Álvarez, J. E., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2021). Biochemical characterization of two chitinases from *Bacillus cereus sensu lato*

- B25 with antifungal activity against *Fusarium verticillioides* P03. *FEMS Microbiology Letters*, 368(2), 1–8. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa218>
- Nicaise, V., Roux, M., & Zipfel, C. (2009). Recent advances in PAMP-Triggered immunity against bacteria: Pattern recognition receptors watch over and raise the alarm. *Plant Physiology*, 150(4), 1638–1647. <https://doi.org/10.1104/pp.109.139709>
- Oyeleye, A., & Normi, Y. M. (2018). Chitinase: Diversity, limitations, and trends in Engineering for suitable applications. *Bioscience Reports*, 38(4), 1–21. <https://doi.org/10.1042/BSR20180323>
- Prabhukarthikeyan, R., Saravanakumar, D., & Raguchander, T. (2014). Combination of endophytic *Bacillus* and *Beauveria* for the management of *Fusarium* wilt and fruit borer in tomato. *Pest Management Science*, 70(11), 1742–1750. <https://doi.org/10.1002/ps.3719>
- Qin, X., Xiang, X., Sun, X., Ni, H., & Li, L. (2016). Preparation of nanoscale *Bacillus thuringiensis* chitinases using silica nanoparticles for nematocide delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.030>
- Kumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1–27. [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9)
- Roy, J. C., Salaün, F., Giraud, S., & Ferri, A. (2017). Solubility of Chitin: Solvents, Solution Behaviors and Their Related Mechanisms. In Z. Xu (ed.), *Solubility of Polysaccharides*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71385>
- Sahai, A. S., & Manocha, M. S. (1993). Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. *FEMS Microbiology Reviews*, 11(4), 317–338. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00004.x>
- Shamshina, J. L., Kelly, A., Oldham, T., & Rogers, R. D. (2020). Agricultural uses of chitin polymers. *Environmental Chemistry Letters*, 18(1), 53–60. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00934-5>
- Šimat, V. (2021). Nutraceuticals and Pharmaceuticals from Marine Fish and Invertebrates. *Marine drugs*, 19(7), 401. <https://doi.org/10.3390/md19070401>
- Somal, M. K., Khushboo, Bhagat, D., Sachan, R. S. K., Rana, A., & Karnwal, A. (2024). Chapter 9 - Formulation of microbial biocontrol agents—an industrial perspective. In A. Kumar, G. Santoyo, & J. B. T.-B. A. for I. A. Singh (Eds.), *Plant and Soil Microbiome* (pp. 215–226). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15199-6.00015-4>
- Souza, R. de, Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38(4), 401–419. <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150053>
- Brzezinska, M., Kalwasińska, A., Świątczak, J., Żero, K., & Jankiewicz, U. (2020). Exploring the properties of chitinolytic *Bacillus* isolates for the pathogens biological control. *Microbial Pathogenesis*, 148, 104462. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104462>

- Vaghela, B., Vashi, R., Rajput, K., & Joshi, R. (2022). Plant chitinases and their role in plant defense: A comprehensive review. *Enzyme and Microbial Technology*, 159, 110055. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2022.110055>
- Vallejo-Domínguez, D., Rubio-Rosas, E., Aguila-Almanza, E., Hernández-Cocoletzi, H., Ramos-Cassellis, M. E., Luna-Guevara, M. L., Rambabu, K., Manickam, S., Siti Halimatul Munawaroh, H., & Loke Show, P. (2021). Ultrasound in the deproteinization process for chitin and chitosan production. *Ultrasonics Sonochemistry*, 72, 105417. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105417>
- Wang, J. J., Zeng, Z. W., Xiao, R. Z., Xie, T., Zhou, G. L., Zhan, X. R., & Wang, S. L. (2011). Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 765–774. <https://doi.org/10.2147/IJN.S17296>
- Wang, L., Chen, M., Lam, P.-Y., Dini-Andreote, F., Dai, L., & Wei, Z. (2022). Multifaceted roles of flavonoids mediating plant-microbe interactions. *Microbiome*, 10(1), 233. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01420-x>
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*, 13(3), 1133–1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>
- Zipfel, C. (2008). Pattern-recognition receptors in plant innate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 20(1), 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2007.11.003>

Avances en el desarrollo de micoherbicidas para el manejo agroecológico de la correhuela (*Convolvulus arvensis* L.) en la agricultura

Recibido en: 10/06/2024

Aprobado en: 17/06/2024

 10.46420/9786585756365cap7

Néstor Daniel Sotelo-Cerón¹ 

Ignacio Eduardo Maldonado-Mendoza¹ 

Karla Yeriana Leyva-Madrigal² 

Abraham Quintero-González¹ 

Juan Carlos Martínez-Álvarez^{1*} 

RESUMEN

La correhuela (*Convolvulus arvensis* L.) es una maleza que representa un desafío constante para la producción de cultivos en diversos países. El uso inadecuado de las tecnologías convencionales de su manejo, como el control químico, ha generado la aparición de biotipos de malezas resistentes y ha incrementado los riesgos para la salud humana y el medio ambiente. Por esta razón, se están investigando métodos alternativos de control, como el control biológico mediante el uso de hongos fitopatógenos. En este estudio, se generaron y evaluaron formulaciones tipo emulsión de los hongos ET4 (*Alternaria alternata*) y TV1 (*Macrophomina phaseolina*) para el control de *C. arvensis*. Los hongos formulados en emulsión mostraron una incidencia y severidad de la enfermedad de hasta el 100%, en comparación con los no formulados, que alcanzaron una incidencia hasta del 17.33% y severidad de hasta del 82.22%, siete días después de la inoculación. En cuanto al peso seco de la raíz, la inhibición fue de hasta 35% y 25% para los hongos formulados y no formulados, respectivamente. En la parte aérea, la inhibición en biomasa seca solo se observó con los hongos formulados, alcanzando hasta el 29%. No se presentó inhibición en plantas de garbanzo, frijol, sorgo o maíz. Al evaluar la vida útil, durante ocho meses de almacenamiento, las formulaciones conservadas a 4°C tuvieron una viabilidad de hasta el 88%, sin disminuciones significativas durante un período de cuatro meses. En contraste, las almacenadas a 25°C mostraron reducciones de viabilidad de hasta el 97.5% en el mismo periodo. Estos resultados demostraron que la

¹ Instituto Politécnico Nacional/CIIDIR Unidad Sinaloa, Guasave, Sinaloa, México.

² Universidad Autónoma de Occidente/Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Unidad Los Mochis, Ahome, Sinaloa, México.

* Autor(a) correspondiente: jcMartínezal@ipn.mx

formulación en emulsión incrementó la severidad de la enfermedad causada por los aislados hasta casi 6 veces y que el almacenamiento a 4°C asegura una vida útil de al menos cuatro meses.

INTRODUCCIÓN

Uno de los factores que limita la producción de cultivos a nivel mundial es el establecimiento y proliferación de malezas (Boyetchko et al., 2002; Brun et al., 2020; Harding & Raizada, 2015), siendo la correhuela (*Convolvulus arvensis* L.) una de las más problemáticas (Boss et al., 2007; Ibrahim & Tawfik, 2019). La aparición de biotipos resistentes, así como los posibles efectos negativos relacionadas con la salud humana y la contaminación ambiental debido al uso inadecuado de las técnicas convencionales de control, ha destacado la necesidad de explorar métodos alternativos para fortalecer el manejo integrado de malezas (Abbas et al., 2018; Bordin et al., 2021; Ferreira & Reinhardt, 2016; Pfirter et al., 1997). Uno de esos métodos es el control biológico (Bordin et al., 2018; Boyetchko et al., 2002; Radhakrishnan et al., 2018) utilizando hongos fitopatógenos (Hershenhorn et al., 2016; Rai et al., 2021; Shabana et al., 2003). Sin embargo, el éxito de estos microorganismos depende de la presencia de una cantidad suficiente en la población de los agentes de biocontrol asociados con la maleza hospedera (Abbas et al., 2018), así como de las condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo de los microorganismos. Estos factores son cruciales para su buen desempeño en el control de las plantas objetivo (Abbas et al., 2018; Auld et al., 2003; Vogelgsang et al., 1998).

El proceso de formulación se considera un componente crucial para reducir los efectos negativos de las condiciones ambientales sobre los agentes de biocontrol (Auld et al., 2003; Boyette et al., 2016; Morin et al., 1990). Además, mejora la eficiencia de aplicación y el efecto de los bioherbicidas (Défago et al., 2001; Rai et al., 2021), promoviendo una vida útil prolongada (Abbas et al., 2018; Zidack & Quimby, 1999) y facilitando el almacenamiento, manipulación y aplicación (Auld et al., 2003; Défago et al., 2001). Para el caso de los micoherbicidas, las formulaciones líquidas en emulsión han demostrado ser efectivas en el control de malezas (Abdessemed et al., 2020; Boyetchko et al., 2002). Este tipo de formulaciones destacan como una de las principales alternativas, debido a que proporcionan un microambiente que favorece el desarrollo de los agentes biológicos durante el proceso de colonización (Babu et al., 2003; Boyette et al., 2016; Ghorbani et al., 2000). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue desarrollar y evaluar formulaciones líquidas en emulsión basadas en dos hongos fitopatógenos (*Macrophomina phaseolina* TV1 y *Alternaria alternata* ET4) para el control de la maleza *C. arvensis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Las cepas de los hongos TV1 (*M. phaseolina*) y ET4 (*A. alternata*) fueron obtenidas a partir de hojas de *C. arvensis* con síntomas de enfermedad fúngica. Los aislados fueron seleccionados con base a su actividad fitopatógena en *C. arvensis* (Sotelo-Cerón et al., 2023).

Propagación de los hongos

La propagación de TV1 y ET4 se realizó siguiendo la metodología de Ibrahim y Tawfik (2019) con algunas modificaciones. Se inocularon matraces Erlenmeyer (500 mL) cada uno con 200 mL de caldo de dextrosa y papa (PDB) (BD Difco™) utilizando seis discos (0.5 cm de diámetro) de colonias de hongos de 7 días de desarrollo. Los matraces se incubaron a 30°C y 150 rpm durante 15 días. Posteriormente, los cultivos se centrifugaron a 3350 g durante 10 min para separar las estructuras fúngicas, las cuales se resuspendieron en 500 mL de agua destilada estéril (ADE).

Posteriormente, se realizó un conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) de los hongos en suspensión mediante diluciones seriadas. Se esparció 0.1 mL de la suspensión en cajas de Petri que contenían agar papa y dextrosa (PDA) y se incubaron a 25°C durante 48 h. Las estructuras fúngicas que presentaron desarrollo de micelio se consideraron UFC y se reportaron como UFC mL⁻¹ (Omer, 2010).

Desarrollo de las formulaciones

Se prepararon formulaciones en emulsión con los aislados TV1 y ET4 tanto individualmente como en combinación siguiendo los métodos de Abdessemed et al. (2020) y Babu et al. (2003) con algunas modificaciones. La formulación consistió en una fase oleosa compuesta por aceite de canola y el surfactante Tween 80 al 1%, combinado con una suspensión acuosa de los hongos fitopatógenos a una concentración de 1×10^6 UFC mL⁻¹. La mezcla de aceite y tensoactivo se homogeneizó utilizando un agitador magnético a 60°C durante 5 minutos; posteriormente, se añadió la suspensión fúngica en una proporción final de 1:9. La mezcla se emulsionó durante tres minutos utilizando una batidora de inmersión manual (RIVAL, IB900MX). Posteriormente, las formulaciones se almacenaron a 4°C y 25°C.

Para determinar la viabilidad de los hongos después del proceso de formulación, se tomaron muestras de la emulsión por triplicado y se llevaron a cabo recuentos de UFC, según la metodología descrita anteriormente.

El porcentaje de viabilidad se determinó utilizando la fórmula propuesta por Cañamás et al. (2008), descrita en la ecuación (1).

$$\% \text{ Viabilidad} = \frac{N_f \times 100}{N_i} \quad \text{Eq. (1)}$$

Donde N_i representa la concentración inicial en UFC mL⁻¹ en la suspensión del hongo antes del proceso de formulación, y N_f corresponde a la concentración en UFC mL⁻¹ después del proceso de formulación.

Evaluación de formulaciones en cámara de crecimiento

Producción de las plantas

Semillas de *C. arvensis*, garbanzo (*Cicer arietinum*, FUNDACIÓN PRODUCE, var. Blanco Sinaloa), frijol (*Phaseolus vulgaris*, INIFAP, var. Reyna), sorgo (*Sorghum bicolor*, WINFIELD UNITED, híbrido CROPLAN 8240) y maíz (*Zea mays*, ASGROW, híbrido Hipopótamo) fueron desinfectadas siguiendo el protocolo de Meena et al. (2016), con algunas modificaciones. Las semillas se sumergieron en una solución de NaOCl al 1% durante 5 min, seguido de un lavado con agua destilada estéril durante 1 min. Posteriormente, se agregó etanol al 30% durante 3 min, seguido de tres lavados adicionales con agua destilada estéril. Posteriormente, las semillas se sembraron a una profundidad de 3 cm en charolas de germinación de poliestireno (3.175 cm × 3.175 cm × 6.35 cm) que contenían una mezcla de sustrato arena/vermiculita (1:2 v/v) previamente esterilizadas en autoclave a 121°C y 15 PSI durante 1 h (por tres días consecutivos). Las charolas se colocaron en una cámara de crecimiento (Luceren®, Modelo RTOP-1000D) con un 60% de humedad relativa y un fotoperiodo de 16/8 h luz (28°C) /oscuridad(16°C). Las plantas se regaron con agua destilada estéril cada tres días y se fertilizaron una vez por semana con solución de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950).

Efecto bioherbicida de las formulaciones

Plantas de *C. arvensis* en etapa de desarrollo de tres hojas verdaderas, así como plantas de garbanzo, frijol, sorgo y maíz de 20 días de desarrollo fueron heridas en todas las hojas mediante punciones con aguja estéril para promover la infección por los hongos. Posteriormente, se rociaron individualmente con 1 mL de los tratamientos a una concentración de 1×10^6 UFC mL⁻¹ de los aislados TV1, ET4 y la mezcla TV1+ET4 tanto en formulaciones como en suspensión de los hongos en ADE, utilizando formulaciones sin hongos fitopatógenos y ADE como controles.

Una vez inoculadas las plantas, las charolas de crecimiento se cubrieron con bolsas de polietileno transparente durante 48 h para conservar la humedad. Las plantas se mantuvieron en una cámara de crecimiento en las condiciones mencionadas anteriormente, durante 7 días para *C. arvensis* y por 15 días para las plantas de garbanzo, frijol, sorgo y maíz. Después de este período, se evaluó la incidencia y severidad de la enfermedad, así como la longitud y peso seco del brote y de la raíz.

La incidencia de la enfermedad se calculó considerando el número de plantas con síntomas sobre el número de plantas totales, mientras que la severidad de la enfermedad se analizó calculando el porcentaje del Índice de Severidad de la Enfermedad (% ISE) utilizando la Ecuación (2) (Townsend & Heuberger, 1943), basada en la escala propuesta por Razaghi y Zafari (2017). Esta escala consta de cinco niveles, donde 0 = sin síntomas, 1 = menos del 10% de la superficie de la planta presenta lesiones, 2 =

10%–25% de lesiones, 3 = 25%–50% de lesiones, 4 = 50% –75% de lesiones, y 5 = 75%–100% de lesiones, resultando en la muerte de la planta.

$$\%ISE = \frac{\sum(n \times v)}{z \times N} \times 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

donde n = número de plantas en cada escala; v = valor de escala; z = valor de escala más alto; y N = número total de plantas.

Los ensayos se llevaron a cabo dos veces de manera independiente, siguiendo un diseño completamente al azar que incluyó cinco plantas por réplica y tres réplicas por tratamiento. Además, se comprobaron los postulados de Koch, para lo que se aislaron los hongos de plantas sintomáticas de *C. arvensis* en el bioensayo y su identidad fue confirmada mediante características morfológicas y análisis molecular (Abdessemed et al., 2019).

Viabilidad y vida de anaquel

La viabilidad y vida de anaquel de las formulaciones almacenadas a 4°C y 25°C se evaluaron cada 30 días durante un periodo de ocho meses por el método diluciones seriadas, siguiendo el procedimiento descrito previamente. La prueba se llevó a cabo por duplicado, con tres repeticiones por tratamiento. El porcentaje de viabilidad se calculó de acuerdo con el método de Omer (2010) con algunas modificaciones:

$$\text{Viabilidad \%} = \frac{U_f}{U_i} \times 100 \quad \text{Eq. (3)}$$

donde U_i representa la concentración del inóculo en la formulación inicial, y U_f es la concentración del inóculo de la formulación en el período evaluado.

Análisis estadístico

Los datos de incidencia y % ISE se transformaron mediante la función de arcoseno. Los datos de UFC mL⁻¹ de las formulaciones se normalizaron utilizando la transformación logarítmica natural (ln). Todos los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Las diferencias estadísticas entre tratamientos y controles en cultivos se calcularon utilizando la prueba t de Student. Los datos se analizaron con el software SPSS (IBM SPSS Statistics para Windows, versión 25.0. IBM, Armonk, Nueva York, NY).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de las formulaciones

Las plantas de *C. arvensis* inoculadas con los hongos formulados presentaron una incidencia de enfermedad del 100%. En contraste, los tratamientos no formulados mostraron una incidencia del

76.67% al 82.22% (Tabla 1). Los síntomas observados fueron consistentes con estudios preliminares (Sotelo-Cerón et al., 2023), sin embargo, en las plantas tratadas con los formulados, la infección se detectó de manera temprana, resultando en una colonización completa de los tallos y hojas en 3 a 4 días post-inoculación (Figura 1), alcanzando un % ISE de 97.33% a 100%. Este %ISE fue mayor al presentado en los tratamientos no formulados, donde se presentó un %ISE de 12.33% a 17.33% en el mismo período (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de los hongos fitopatógenos formulados sobre el desarrollo, incidencia y severidad de la enfermedad en *C. arvensis*.

Aislado	Longitud (cm)		Peso seco (mg)		Incidencia (%)	%ISE
	Raíz	Parte aérea	Raíz	Parte aérea		
TV1	8.45±0.74 ^{ab}	27.40±1.49 ^c	11.36±1.28 ^a	43.61±4.77 ^{bc}	76.67±5.77 ^{bc}	12.33±0.58 ^b
TV1 F	7.38±1.30 ^a	15.78±0.99 ^a	9.95±0.23 ^a	33.24±2.53 ^a	100.00±0.00 ^c	100.00±0.00 ^c
ET4	8.63±0.83 ^{ab}	21.92±0.42 ^{bc}	12.01±1.01 ^{ab}	43.43±2.25 ^{bc}	83.33±5.77 ^{bc}	14.67±1.53 ^b
ET4 F	7.77±0.64 ^a	15.89±2.41 ^a	10.27±1.65 ^a	35.45±3.73 ^{ab}	100.00±0.00 ^c	99.33±1.15 ^c
TV1+ET4	8.53±0.89 ^{ab}	27.65±3.08 ^c	12.27±1.79 ^{abc}	42.52±3.43 ^{abc}	80.00±10.00 ^{bc}	17.33±3.06 ^b
(TV1+ET4) F	7.88±1.23 ^a	16.01±0.95 ^{ab}	11.29±1.03 ^a	36.85±2.92 ^{ab}	100.00±0.00 ^c	97.33±1.15 ^c
Control F	10.80±0.36 ^b	27.43±3.63 ^c	15.77±1.09 ^c	46.5±1.16 ^c	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
Control H ₂ O	10.71±0.79 ^b	27.63±1.76 ^c	15.23±1.20 ^c	47.13±4.44 ^c	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a

Nota: Las diferencias estadísticas entre aislados y control se indican con letras diferentes ($p \leq 0.05$). TV1 F, ET4 F y (TV1+ET4) F, se refiere a tratamientos formulados con hongos fitopatógenos. TV1, ET4 y TV1+ET4, se refiere a tratamientos de hongos fitopatógenos no formulados. Controles se refieren a tratamientos con agua destilada estéril (Control H₂O) y formulación sin hongos fitopatógenos (Control F). ISE: Índice de Severidad de la Enfermedad.



Figura 1. Efecto de hongos fitopatógenos formulados en el desarrollo de plantas de *C. arvensis*, 7 post-inoculación. TV1 F, ET4 F y (TV1+ET4) F, se refiere a tratamientos formulados con hongos fitopatógenos. TV1, ET4 y TV1+ET4, se refiere a tratamientos de hongos fitopatógenos no formulados. Controles se refieren a tratamientos con agua destilada estéril (Control H₂O) y formulación sin hongos fitopatógenos (Control F). Barra de escala = 5 cm.

En la longitud de las raíces tratadas con los hongos formulados se observó una disminución del 26% al 31%, mientras que en aquellas tratadas con hongos no formulados no se encontraron diferencias significativas en comparación con los controles (Tabla 1). Además, se observaron reducciones en el peso seco de las raíces que variaron entre el 26% y el 35% con hongos formulados, y entre el 19% y el 25% con hongos no formulados (Tabla 1). Por otro lado, en la parte aérea, solo se observaron reducciones significativas en las plantas tratadas con hongos formulados, con una disminución del 42% al 43% en la longitud y del 22% al 29% en el peso seco (Tabla 1). Las plantas de garbanzo, frijol, sorgo y maíz inoculadas con los tratamientos formulados no mostraron síntomas de enfermedad ni efectos negativos en su desarrollo (datos no mostrados).

El proceso de formulación ha sido reconocido como un componente crucial para mejorar la actividad bioherbida de un agente de control biológico (Zhang et al., 2003). Esto se ha demostrado tanto en el presente estudio como en investigaciones previas. Shabana et al. (2010) observaron un aumento de 5.55 veces en la severidad de la enfermedad y una inhibición del 58.53% del peso seco de plantas de *Amaranthus tuberculatus* tratadas con una formulación en emulsión del hongo fitopatógeno *Microsphaeropsis amaranthi* en comparación con las plantas tratadas con el hongo no formulado. Por otro lado, Abdessemed et al. (2020), evaluaron una formulación en emulsión de *Alternaria alternata* para el control de *Xanthium strumarium*, observando una reducción en la longitud de los brotes y las raíces, así como en el peso seco total de las plantas, en un 50%, 26.76% y 57.69%, respectivamente, además de un % ISE de hasta 80%. En cuanto a *C. arvensis*, esta maleza ha sido controlada en campo con una formulación en emulsión a base de esporas de *Stagonospora* sp., resultando en un 94.5% de necrosis del área foliar, mientras que la aplicación de hongos no formulados generó menos del 50% de necrosis en el área foliar en planta (Pfirter & Defago, 1998).

La mejora del efecto bioherbida de las formulaciones TV1 F, ET4 F y (TV1+ET4) F se debe posiblemente a la capacidad de sus componentes para mitigar factores ambientales como la temperatura y los largos periodos de rocío necesarios para la propagación de los hongos (Boyette et al., 2016). Esto se logra al retrasar la evaporación y atrapar el agua de la emulsión alrededor de las células del hongo, favoreciendo su germinación durante la infección, o al inducir un suministro exógeno de agua, desde las células del tejido foliar (Abdessemed et al., 2020; Babu et al., 2003; Shabana et al., 2010). Además, la formulación en emulsión mejora la adhesión de los agentes de biocontrol a las hojas (Auld et al., 2003; Pfirter & Defago, 1998) y la penetración en los tejidos foliares, facilitada por el surfactante presente, aumenta la retención del inóculo, y la probabilidad de infección por el agente bioherbida (Bastos et al., 2017; Boyetchko et al., 2002).

Viabilidad y vida de anaquel

Las formulaciones almacenadas a 25°C no mostraron diferencias estadísticas en comparación con la concentración inicial durante los primeros dos meses de almacenamiento. Sin embargo, durante el tercer mes, la viabilidad disminuyó a 32%, 4% y 6% para las formulaciones TV1 F, ET4 F y (TV1+ET4) F respectivamente. A partir del quinto mes, la viabilidad de estas formulaciones fue inferior al 1% (Figura 2). Por otro lado, las formulaciones almacenadas a 4°C se mantuvieron estables durante los primeros cuatro meses, con viabilidades de 84%, 88% y 64% para TV1 F, ET4 F y (TV1+ET4) F respectivamente. Después de 8 meses la viabilidad observada fue del 1 al 2% (Figura 3).

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Shabana et al. (2003), quienes sostienen que el almacenamiento a bajas temperaturas contribuye a la preservación de la viabilidad de los agentes de biocontrol. Por otro lado, Hershenhorn et al. (2016) indican que la formulación debe mejorar la efectividad del microorganismo y garantizar una vida útil de al menos un año. Shabana et al. (2003) también reportaron que una formulación tipo pesta retuvo el 93% de la viabilidad de las esporas de *Fusarium oxysporum* durante un año de almacenamiento a 3°C. La estabilidad a largo plazo y la vida útil prolongada son aspectos deseables en el desarrollo de formulaciones, ya que facilitan el transporte desde el fabricante hasta el usuario final (Boyetchko et al., 2002), favoreciendo la comercialización de los productos de biocontrol (Zidack & Quimby, 1999).

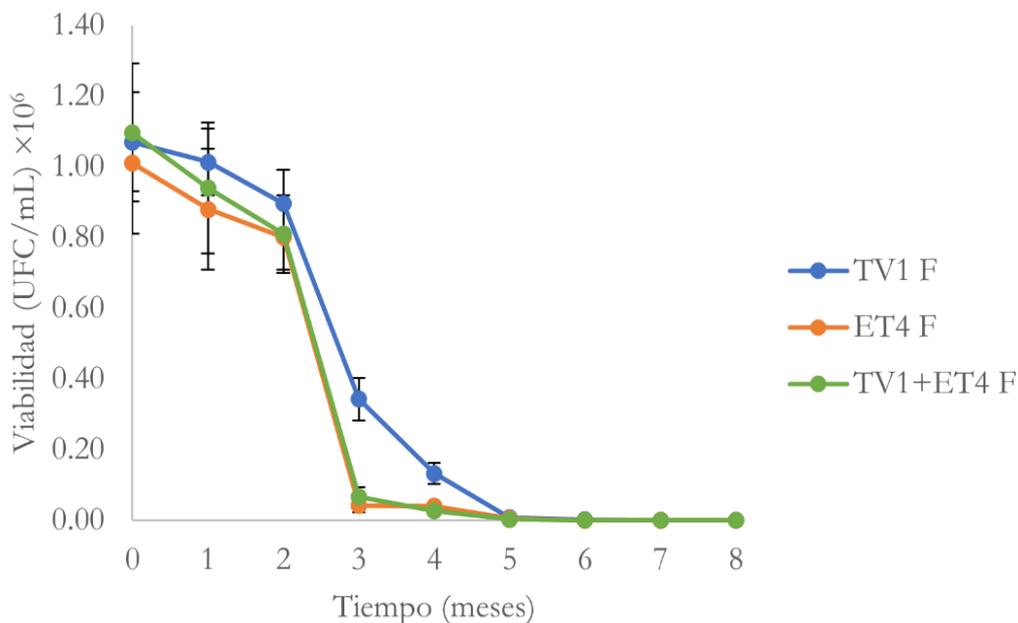


Figura 2. Vida de anaquel de formulaciones de hongos fitopatógenos almacenadas a 25°C.

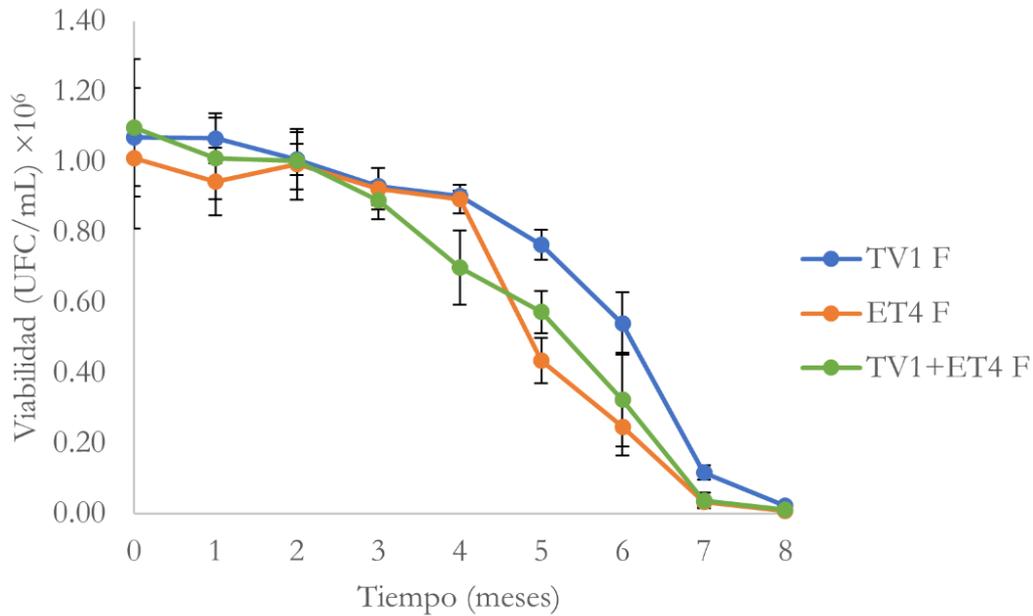


Figura 3. Vida de anaquel de formulaciones de hongos fitopatógenos almacenadas a 4°C.

CONCLUSIONES

En conclusión, los hallazgos del presente estudio indican que la formulación en emulsión de los hongos TV1 y ET4, así como su combinación TV1+ET4, incrementa significativamente el potencial bioherbicida de estos aislados en comparación con los aislados no formulados. Además, se ha demostrado que su almacenamiento a 4°C permite mantener su viabilidad y efectividad durante al menos cuatro meses. Estos resultados subrayan la importancia de una formulación adecuada para mejorar la eficacia y la estabilidad de los agentes de biocontrol.

Para avanzar en este campo, se sugiere realizar estudios adicionales con estas formulaciones en condiciones de invernadero y en campo abierto. Esto permitirá evaluar su desempeño en entornos más variables y realistas, proporcionando datos cruciales para su potencial comercialización y uso práctico en programas de manejo integrado de malezas. Además, investigar otras posibles combinaciones y optimizar su formulación podría mejorar aún más la eficacia y durabilidad de estos agentes bioherbicidas.

BIBLIOGRAFÍA

Abbas, T., Zahir, Z.A., Naveed, M., & Kremer, R.J. 2018. Chapter Five - Limitations of existing weed control practices necessitate development of alternative techniques based on biological approaches. In: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press (Vol. 147), pp. 239-280. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.10.005>

- Abdessemed, N., Bahet, Y.A., & Zermane, N. 2020. Mycoherbicide potential of *Alternaria alternata* (Fries.) Kiessler and its formulations on the host weed *Xanthium strumarium* L. *Biocontrol Science and Technology*, 30(12): 1300-1315. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1814692>
- Abdessemed, N., Kerroum, A., Bahet, Y., Talbi, N., & Zermane, N. 2019. First report of *Alternaria* leaf spot caused by *Alternaria alternata* (Fries.) Kiessler on *Sonchus oleraceus* L. and *Convolvulus arvensis* L. in Algeria [<https://doi.org/10.1111/jph.12800>]. *Journal of Phytopathology*, 167(6): 321-325. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jph.12800>
- Auld, B., Hetherington, S., & Smith, H. 2003. Advances in bioherbicide formulation. *Weed Biology and Management*, 3: 61-67. <https://doi.org/10.1046/j.1445-6664.2003.00086.x>
- Babu, R.M., Sajeena, A., & Seetharaman, K. 2003. Bioassay of the potentiality of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler as a bioherbicide to control waterhyacinth and other aquatic weeds. *Crop Protection*, 22(8): 1005-1013. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(03\)00115-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0261-2194(03)00115-7)
- Bastos, B.O., Deobald, G.A., Brun, T., Dal Prá, V., Junges, E., Kuhn, R.C., Pinto, A.K., & Mazutti, M.A. 2017. Solid-state fermentation for production of a bioherbicide from *Diaporthe* sp. and its formulation to enhance the efficacy. *3 Biotech*, 7(2): 135. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0751-4>
- Bordin, E., Camargo, A., Rossetto, V., Scapini, T., Modkovski, T., Weirich, S., Carezia, C., Franceschetti, M., Balem, A., Golunski, S., Galon, L., Fuzinato, C., Fongaro, G., Mossi, A., & Treichel, H. 2018. Non-toxic bioherbicides obtained from *Trichoderma koningiopsis* can be applied to the control of weeds in agriculture crops. *Ind. Biotechnol.*, 14: 157-163. <https://doi.org/10.1089/ind.2018.0007>
- Bordin, E.R., Frumi Camargo, A., Stefanski, F.S., Scapini, T., Bonatto, C., Zanivan, J., Preczeski, K., Modkovski, T.A., Reichert Júnior, F., Mossi, A.J., Fongaro, G., Ramsdorf, W.A., & Treichel, H. 2021. Current production of bioherbicides: mechanisms of action and technical and scientific challenges to improve food and environmental security. *Biocatal. Biotransform.*, 39(5): 346-359. <https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1833864>
- Boss, D., Schläpfer, E., Fuchs, J., Défago, G., & Maurhofer, M. 2007. Improvement and application of the biocontrol fungus *Stagonospora convolvuli* LA39 formulation for efficient control of *Calyptegia sepium* and *Convolvulus arvensis*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 114(5): 232-238. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF03356223>

- Boyetchko, S.M., Rosskopf, E.N., Caesar, A.J., & Charudattan, R. 2002. Biological weed control with pathogens: search for candidates to applications. In: Khachatourians, G.G., & Arora, D.K. (Eds.), *Applied Mycology and Biotechnology*. Elsevier (Vol. 2), pp. 239-274. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1874-5334\(02\)80013-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1874-5334(02)80013-2)
- Boyette, C., Hoagland, R., & Stetina, K. 2016. Efficacy improvement of a bioherbicide using a formulation-based approach. *American Journal of Plant Sciences*, 07: 2349-2358. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.716206>
- Brun, T., Rabuske, J.E., Luft, L., Confortin, T.C., Toderó, I., Aita, B.C., Zabot, G.L., & Mazutti, M.A. 2020. Powder containing biomolecules from *Diaporthe schini* for weed control. *Environ. Technol.*, 43(14): 2135-2144. <https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1867651>
- Cañamás, T.P., Viñas, I., Usall, J., Magan, N., Solsona, C., & Teixidó, N. 2008. Impact of mild heat treatments on induction of thermotolerance in the biocontrol yeast *Candida sake* CPA-1 and viability after spray-drying. *J Appl Microbiol*, 104(3): 767-775. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03590.x>
- Défago, G., Ammon, H.U., Cagán, L., Draeger, B., Greaves, M.P., Guntli, D., Hoeke, D., Klimes, L., Lawrie, J., Moënné-Loccoz, Y., Nicolet, B., Pfirter, H.A., Tabacchi, R., & Toth, P. 2001. Towards the biocontrol of bindweeds with a mycoherbicide. *BioControl*, 46: 157-173. <https://doi.org/10.1023/A:1011441816615>
- Ferreira, M.I., & Reinhardt, C.F. 2016. Allelopathic weed suppression in agroecosystems: A review of theories and practices. *Afr. J. Agric. Res.*, 11(6): 450-459. <https://doi.org/10.5897/ajar2015.10580>
- Ghorbani, R., Seel, W., Litterick, A., & Leifert, C. 2000. Evaluation of *Alternaria alternata* for biological control of *Amaranthus retroflexus*. *Weed Science*, 48(4): 474-480. [https://doi.org/https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0474:EOAAFB\]2.0.CO;2](https://doi.org/https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0474:EOAAFB]2.0.CO;2)
- Harding, D.P., & Raizada, M.N. 2015. Controlling weeds with fungi, bacteria and viruses: a review [Review]. *Front. Plant Sci.*, 6(659). <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00659>
- Hatta, R., Ito, K., Hosaki, Y., Tanaka, T., Tanaka, A., Yamamoto, M., Akimitsu, K., & Tsuge, T. 2002. A conditionally dispensable chromosome controls host-specific pathogenicity in the fungal plant pathogen *Alternaria alternata*. *Genetics*, 161(1): 59-70. <https://doi.org/10.1093/genetics/161.1.59>
- Hershenhorn, J., Casella, F., & Vurro, M. 2016. Weed biocontrol with fungi: past, present and future. *Biocontrol Science and Technology*, 26(10): 1313-1328. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1209161>

- Hoagland, D.R., & Arnon, D.I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil second ed., Vol. 347. College of Agriculture, University of California, Berkeley, California, p.
- Ibrahim, N., & Tawfik, M. 2019. Fungi as potential biocontrol agents against *Convolvulus arvensis* and *Portulaca oleracea* infesting the agroecosystems of Egypt. Egypt. J. Microbiol., 54(1): 117-135. <https://doi.org/https://doi.org/10.21608/ejm.2019.17443.1117>
- Kotan, R., Okutucu, A., Ala Görmez, A., Karagoz, K., Dadasoglu, F., Karaman, İ., Hasanekoglu, İ., & Kordali, Ş. 2013. Parasitic bacteria and fungi on common mistletoe (*Viscum album* L.) and their potential application in biocontrol. Journal of Phytopathology, 161(3): 165-171. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jph.12048>
- Meena, M., Prasad, V., & Upadhyay, R.S. 2016. Assessment of the bioweedicial effects of *Alternaria alternata* metabolites against *Parthenium* species. Bulletin of Environmental and Scientific Research, 5(1): 1-7. <http://besr.org.in/index.php/besr/article/view/60>
- Morin, L., Watson, A.K., & Reeleder, R.D. 1990. Effect of dew, inoculum density, and spray additives on infection of field bindweed by *Phomopsis convolvulus*. Canadian Journal of Plant Pathology, 12(1): 48-56. <https://doi.org/10.1080/07060669009501042>
- Omer, A. 2010. Bioformulations of *Bacillus* spores for using as biofertilizer. Life Science Journal, 7.
- Pfirter, H.A., Ammon, H.-U., Guntli, D., Greaves, M.P., & Defago, G. 1997. Towards the management of field bindweed (*Convolvulus arvensis*) and hedge bindweed (*Calystegia sepium*) with fungal pathogens and cover crops. Integrated Pest Management Reviews, 2(2): 61-69. <https://doi.org/https://doi.org/10.1023/A:1018432513776>
- Pfirter, H.A., & Defago, G. 1998. The potential of *Stagonospora* sp. as a mycoherbicide for field bindweed. Biocontrol Science and Technology, 8(1): 93-101. <https://doi.org/10.1080/09583159830469>
- Radhakrishnan, R., Alqarawi, A.A., & Abd Allah, E.F. 2018. Bioherbicides: Current knowledge on weed control mechanism. Ecotoxicol. Environ. Saf., 158: 131-138. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.018>
- Rai, M., Zimowska, B., Shinde, S., & Tres, M.V. 2021. Bioherbicidal potential of different species of *Phoma*: opportunities and challenges. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 105(8): 3009-3018. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11234-w>
- Razaghi, P., & Zafari, D. 2017. *Phoma crystallifera* with phytotoxic effects and pathogenic potential against field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.) in Iran. Journal of Applied Microbiology, 122: 1275-1285. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jam.13411>

- Shabana, Y., Singh, D., Ortiz-Ribbing, L.M., & Hallett, S.G. 2010. Production and formulation of high quality conidia of *Microsphaeropsis amarantbi* for the biological control of weedy *Amaranthus* species. *Biological Control*, 55(1): 49-57. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.06.014>
- Shabana, Y.M., Müller-Stöver, D., & Sauerborn, J. 2003. Granular Pesta formulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. orthoceras for biological control of sunflower broomrape: efficacy and shelf-life. *Biological Control*, 26(2): 189-201. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00130-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00130-5)
- Siddiqui, I., Bajwa, R., & Javaid, D.A. 2010. Mycoherbicide potential of *Alternaria alternata* for management of *Chenopodium album* under field condition. *African Journal of Biotechnology*, 9: 8308-8312. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1023>
- Sotelo-Cerón, N.D., Maldonado-Mendoza, I.E., Leyva-Madrigal, K.Y., & Martínez-Álvarez, J.C. 2023. Isolation, selection, and identification of phytopathogenic fungi with bioherbicide potential for the control of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.). *Weed Biology and Management*, 23 (3-4): 99-109. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/wbm.12275>
- Townsend, G., & Heuberger, J. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicidal experiments. *Plant Dis Reporter*, 27(17): 340-343. <https://eurekamag.com/research/025/008/025008582.php>
- Vogelgsang, S., Watson, A., & DiTommaso, A. 1998. Effect of moisture, inoculum production, and planting substrate on disease reaction of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.) to the fungal pathogen, *Phomopsis convolvulus*. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 253-262. <https://doi.org/10.1023/A:1008681900370>
- Zhang, W., Wolf, T.M., Bailey, K.L., Mortensen, K., & Boyetchko, S.M. 2003. Screening of adjuvants for bioherbicide formulations with *Colletotrichum* spp. and *Phoma* spp. *Biological Control*, 26(2): 95-108. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00133-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00133-0)
- Zidack, N., & Quimby, P. 1999. Formulation and application of plant pathogens for biological weed control Vol. 5. *Methods in Biotechnology*, p. [https://doi.org/ https://doi.org/10.1385/0-89603-515-8:371](https://doi.org/https://doi.org/10.1385/0-89603-515-8:371)

Caracterización fisicoquímica parcial de la harina de grillo domestico *Acheta domesticus* como ingrediente novedoso en formulaciones

Recibido en: 23/05/2024

Aprobado en: 06/06/2024

 10.46420/9786585756365cap8

Aldo Fraijo-Valenzuela¹ 

Joe Luis Arias-Moscoso^{2*} 

Barbara Aboites-Martínez² 

José Reyes Gonzalez-Galaviz³ 

Libia Zulema Rodriguez-Anaya³ 

RESUMEN

El incremento en la demanda de harina de pescado ha creado una fuerte necesidad de emplear fuentes de proteína que cumplan con el requerimiento nutricional de los cultivos y a su vez sean asequibles y sostenibles con el medio ambiente. En el presente estudio se analizó la composición nutricional de la harina de grillo *Acheta domesticus* mediante análisis bromatológico para determinar su factibilidad como ingrediente en formulaciones acuícolas. Su alto contenido de proteína cruda, (54.44%) similar a la harina de pescado, hace de la harina de grillo *A. domesticus* un ingrediente novedoso y de calidad que podría ser empleado como ingrediente en formulaciones acuícolas. En adición, el impacto medioambiental de su producción es nulo en comparación con otras fuentes de proteína y su composición puede ser modificada mediante distintos procesos químicos para mejorar su calidad final.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura representa el sector alimentario de mayor crecimiento de la última década (Little et al., 2016), con una producción anual de 88 millones de toneladas en peso vivo, equivalentes a 265 millones de dólares en ganancia (FAO, 2022). Además, ha superado la producción de la pesquería por captura y ha mantenido un crecimiento constante a lo largo de los años. No obstante, en años recientes su producción se ha estancado debido a la disminución de la harina de pescado, la cual es la principal

¹ Programa de Doctorado en Ciencias Especialidad en Biotecnología /Instituto Tecnológico de Sonora, Cd. Obregón, Sonora, México, CP: 85000

² Tecnológico Nacional de México /Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui, Bácum Sonora, México, CP: 85270

³ CONAHCYT /Instituto Tecnológico de Sonora, Cd. Obregón, Sonora, México, CP: 85000.

* Autor(a) correspondiente: jarias.moscoso@itvy.edu.mx

fuelle de proteína, aminoácidos y ácidos grasos en formulaciones acuícolas (FAO, 2022; Jobling, 2012). El crecimiento acelerado de la producción por acuicultura conlleva a un incremento en la demanda de harina de pescado, que a su vez incrementa el precio este ingrediente principal para la formulación de alimentos acuícolas. Debido a lo anterior, se pone en riesgo la sostenibilidad de la acuicultura pues el costo de los alimentos representa el 50% de los costos de producción (Ayisi et al., 2017; Dai et al., 2017). Ante esta problemática han surgido fuentes de proteína alternas a la harina de pescado, siendo la más común la harina de soya (Gasco et al., 2018; Hodar et al., 2020). Sin embargo, la presencia de factores anti nutricionales y déficit de aminoácidos esenciales ha limitado su uso y solo han logrado sustituir parcialmente la harina de pescado.

La harina de grillo domestico *Acheta domesticus* se presenta como un ingrediente de calidad, apto para sustituir la harina de pescado, pues posee un alto contenido de proteína digestible, lípidos, aminoácidos, vitaminas y minerales (Alfiko et al., 2022; Barker et al., 1998; Barroso et al., 2014; Finke, 2002; Oonincx & Finke, 2021; Pilco-Romero et al., 2023; Tran et al., 2015) (Figura 1), cuya composición se puede modificar mediante enriquecimiento del sustrato y diferentes procesos químicos (Lucas-González et al., 2019; Ndiritu et al., 2017; Oloo et al., 2020) para satisfacer las necesidades nutricionales de los cultivos. En adición, su producción posee un mínimo impacto ambiental al requerir menos espacio y agua y generar substancialmente menos emisiones de gases de invernadero en comparación con otras fuentes de proteína (Guo et al., 2022; Siddiqui et al., 2023; Van Peer et al., 2024; Vauterin et al., 2021) (Figura 2). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar la composición proximal de la harina de grillo domestico mediante análisis bromatológicos para evaluar su potencial como ingrediente en formulaciones acuícolas.

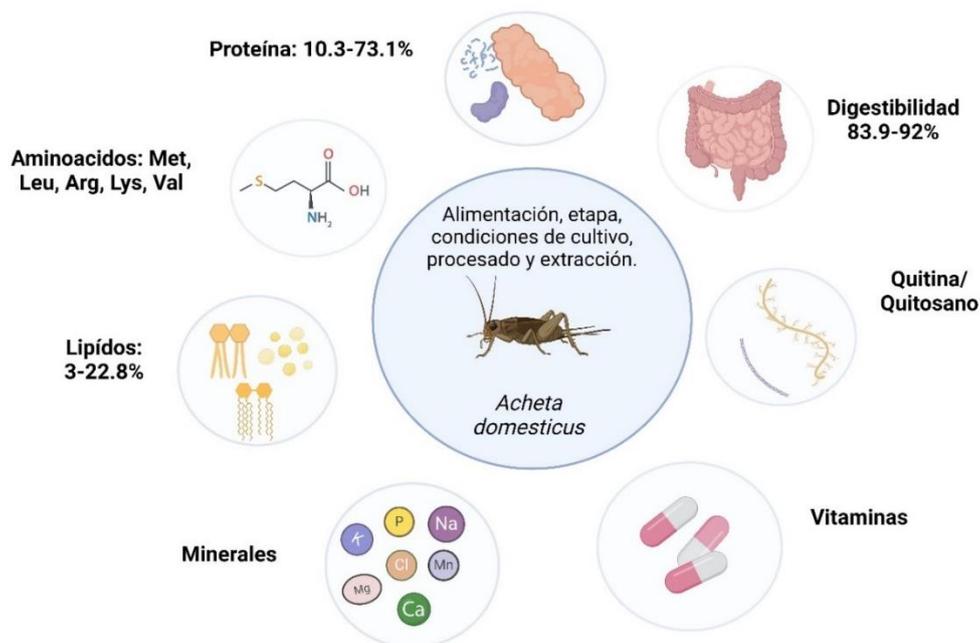


Figura 1. Composición nutricional del grillo domestico *A. domesticus*. Creadas con Biorender.com



Figura 2. Comparación del impacto ambiental de la harina de grillo y otras fuentes convencionales de proteína. Creadas con Biorender.com.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo y obtención de harina de grillo doméstico

El cultivo de grillo se llevó a cabo acorde a la metodología propuesta por Hanboonsong & Durst (2020). Para el cultivo se emplearon ejemplares adultos procurados de un productor, con una densidad inicial de 30 individuos, con una relación de 1 macho por cada 10 hembras. Los ejemplares se colocaron en contenedores plásticos de 40x60 cm, los cuales contenían carteras de huevo alineados verticalmente como refugio, bebederos de 3 cm de alto y un contenedor plástico con sustrato de maceta como colector de los huevecillos o ponedero. Cada contenedor fue etiquetado con datos como la fecha, población y ciclo reproductivo. La alimentación de los grillos consistió en alimento seco para mascotas (30% de proteína) y vegetales frescos. Una vez obtenidos los huevos se colocaron en contenedores plásticos para su incubación bajo condiciones controladas de temperatura (35°C) y humedad. Se mantuvo la humedad del sustrato rociándole agua destilada con un atomizador. Simultáneamente, se mantuvo una bitácora para el control de cada ciclo reproductivo. Después de cada ciclo de cultivo, los contenedores se desmantelaron y se limpiaron y desinfectaron. Cada ciclo de cultivo tuvo una duración de 80 días.

Una vez alcanzada la biomasa requerida (6,000 individuos) se sacrificaron los grillos por congelación para ser posteriormente secados en un horno a 50°C por 48 horas. Una vez secos, se molieron en un molino de carne hasta la obtención de la harina de grillo, acorde a la metodología

propuesta por (Udomsil et al., 2019). Al final se anotó el rendimiento en peso de la harina de grillo con respecto al total de los individuos secos molidos.

Análisis bromatológico de la harina de grillo

La composición proximal de la harina de grillo se analizó mediante la metodología propuesta por la AOAC (2005) (Figura 3). Para la determinación de humedad, cenizas, proteína cruda y lípidos. Cada análisis se efectuó por triplicado.

El contenido de humedad en la harina de grillo se determinó por secado en horno a 110°C hasta alcanzar el peso constante. Las muestras desecadas de la prueba anterior se emplearon para la determinación de proteínas y lípidos. El contenido de proteína cruda en las muestras se determinó por el método micro Kjeldahl después de una digestión acida, seguido de una neutralización, destilación y posteriormente una titulación. El contenido de grasa cruda se determinó empleando el método Soxhlet por extracción con hexano. El contenido de cenizas se determinó por incineración en mufla a 550°C.

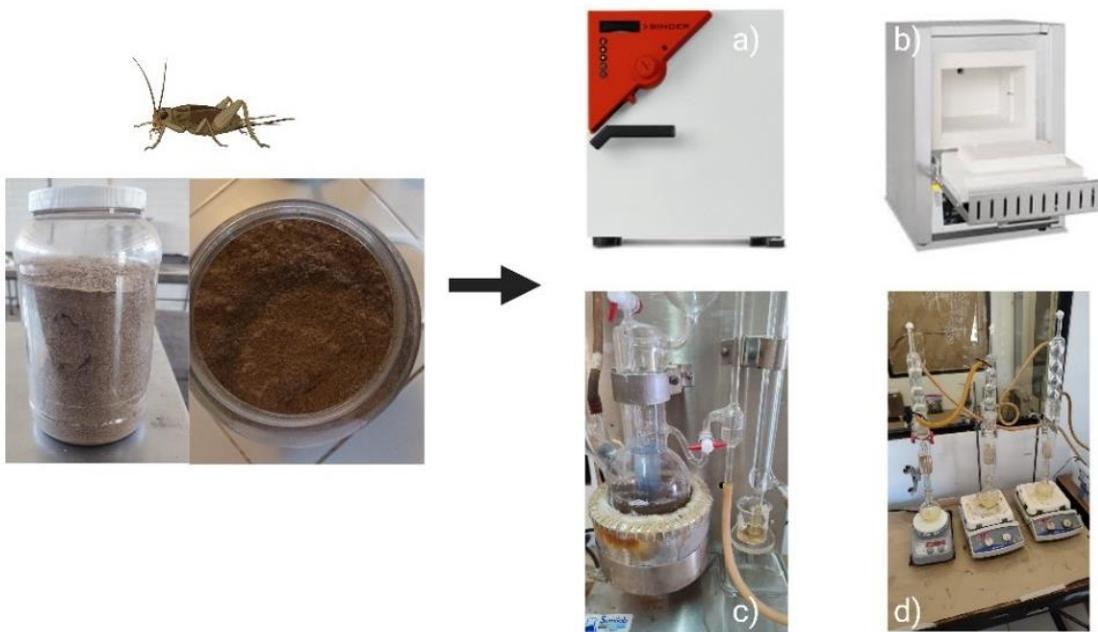


Figura 3. Análisis proximal de la harina de grillo; a) análisis de humedad en horno; b) análisis de cenizas en mufla; c) análisis de proteína cruda; d) análisis de lípidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento del cultivo de grillo

Se obtuvo una biomasa de 6000 individuos por ciclo de cultivo, equivalente a 1 kg de harina de grillo.



Figura 4. Harina obtenida de grillo.

Composición proximal de la harina de grillo

La composición proximal de la harina de grillo se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición proximal de la harina de grillo. Fuente: Elaboración propia.

Humedad	Cenizas	Proteína cruda	Lípidos
6.98%±0.12	8.17%±0.15	54.44%±3.52	3.15%±0.46

La harina de grillo presentó un alto contenido de proteína, el cual cumple con los requerimientos del camarón blanco *P. vannamei* y otras especies cultivables (Jobling, 2012). Acorde a investigaciones previas, el contenido de proteína en la harina de grillo oscila entre 48 y 73% (Barroso et al., 2014; Irungu et al., 2018; Perera & Bhujel, 2022; Tran et al., 2015; Udomsil et al., 2019). En el presente estudio la harina de grillo presentó 54.44% de proteína, superior a la harina de soya (51.8 %) (Alfiko et al., 2022) y aproximado a la harina de pescado (60-70%) (Cho & Kim, 2011). Por lo que se podría emplear la harina de grillo como fuente de proteína en alimentos balanceados para organismos de acuicultura. En contraste, presentó un bajo contenido de humedad. El contenido de humedad influye en la calidad final del pellet. En conjunto con los parámetros de extrusión, el contenido de humedad de los ingredientes puede alterar las características nutricionales, sensoriales y texturales de los pellets (Rajendra et al., 2023).

Parámetros del pellet como su dureza, densidad, expansión y capacidad de retención de aceite son de interés en la acuicultura puesto que influyen en la flotabilidad e integridad del pellet y están ligados con el contenido de humedad y fuente de proteína (Draganovic et al., 2011). Además, un nivel excesivo de humedad (25%) deteriora los pellets y reduce su tiempo de almacenamiento debido al crecimiento microbiano (Kabir et al., 2015).

Similarmente, el contenido de lípidos presentes en la harina fue relativamente bajo y contrasta con lo previamente reportado (Barroso et al., 2014; Brogan et al., 2021; Irungu et al., 2018; Perera & Bhujel, 2022; Udomsil et al., 2019). Los lípidos son un componente esencial en alimentos balanceados dietas, dado que proveen energía y ácidos grasos esenciales (Shiau, 1998). En el presente, el contenido de lípidos de la harina de grillo fue bajo, considerando el dietario de lípidos de camarones peneidos (Jobling, 2012).

El contenido de cenizas presente en la harina de grillo coincide con lo previamente reportado por Irungu, 2018. Las cenizas son el contenido mineral presente en los ingredientes o dieta. No obstante, un alto contenido de cenizas en las dietas afecta negativamente la salud de los organismos, incrementando la tasa de mortalidad y reduciendo el crecimiento (Shearer et al., 1992). En el caso de los insectos, estos presentan proteína unida a su exoesqueleto mineralizado, por lo que un alto contenido de cenizas podría disminuir su digestibilidad (Oonincx & Finke, 2021).

La composición proximal de la harina de grillo varía a diversos factores como las técnicas de extracción (Ndiritu et al., 2017), procesamiento de la harina (Lucas-González et al., 2019), así como de la alimentación proporcionada a los organismos y condiciones del cultivo (Oloo et al., 2020; Oonincx & Finke, 2021).

Por ende, es clave analizar la composición proximal de la harina de grillo para determinar tanto la calidad nutricional de las dietas como la calidad del pellet.

CONCLUSIONES

La harina de grillo por su composición nutricional podría emplearse como ingrediente novedoso sostenible e incluso sustituir la harina de pescado en formulaciones de alimentos balanceados. En adición, su composición y calidad final se puede manipular y mejorar mediante distintas estrategias. No obstante, se requiere mayor investigación para determinar el nivel adecuado en formulaciones para distintas especies de importancia acuícola.

BIBLIOGRAFÍA

A.O.A.C. (2005). International Official Methods of Analysis. The association of official analytical chemists, Volumen II.

- Alfiko, Y., Xie, D., Astuti, R. T., Wong, J., & Wang, L. (2022). Insects as a feed ingredient for fish culture: Status and trends. *Aquaculture and Fisheries*, 7(2), 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.10.004>
- Ayisi, C. L., Hua, X., Apraku, A., Afriyie, G., & Kyei, B. A. (2017). Recent Studies Toward the Development of Practical Diets for Shrimp and Their Nutritional Requirements. *HAYATI Journal of Biosciences*, 24(3), 109–117. <https://doi.org/10.1016/J.HJB.2017.09.004>
- Barker, D., Fitzpatrick, M. P., & Dierenfeld, E. S. (1998). Nutrient composition of selected whole. *Zoo Biology*, 17(2), 123–134.
- Barroso, F. G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M. J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A., & Pérez-Bañón, C. (2014). The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture*, 422–423, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.024>
- Brogan, E. N., Park, Y. L., Matak, K. E., & Jaczynski, J. (2021). Characterization of protein in cricket (*Acheta domesticus*), locust (*Locusta migratoria*), and silk worm pupae (*Bombyx mori*) insect powders. *Lwt*, 152(August), 112314. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112314>
- Cho, J. H., & Kim, I. H. (2011). Fish meal - nutritive value. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95(6), 685–692. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01109.x>
- Dai P, Luan S, Lu X, Luo K, Cao B, Meng X, Kong J (2017) Genetic evaluation of feed efficiency in the breeding population of *Fenneropenaeus chinensis* “Huanghai No. 2” using phenotypic, pedigree and genomic information. *Aquac Int* 25:2189-2200. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0182-6>
- Draganovic, V., van der Goot, A. J., Boom, R., & Jonkers, J. (2011). Assessment of the effects of fish meal, wheat gluten, soy protein concentrate and feed moisture on extruder system parameters and the technical quality of fish feed. *Animal Feed Science and Technology*, 165(3–4), 238–250. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.03.004>
- FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA), FAO: Rome, 2022. In *The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFLA)*.
- Finke, M. D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21(3), 269–285. <https://doi.org/10.1002/zoo.10031>
- Gasco, L., Gai, F., Maricchiolo, G., Genovese, L., Ragonese, S., Bottari, T., & Caruso, G. (2018). *Fishmeal Alternative Protein Sources for Aquaculture Feeds* (pp. 1–28). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77941-6_1
- Guo, H., Su, Z., Yang, X., Xu, S., & Pan, H. (2022). Greenhouse Gas Emissions from Beef Cattle Breeding Based on the Ecological Cycle Model. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(15). <https://doi.org/10.3390/ijerph19159481>
- Hanboonsong, A., & Durst, P. (2020). *Guidance on sustainable cricket farming*. A practical manual. Bangkok, FAO. <https://doi.org/10.4060/cb2446en>

- Hodar, A. R., Vasava, R., Joshi, N. H., & Mahavadiya, D. R. (2020). Fish meal and fish oil replacement for alternative sources: a review. *Journal of Experimental Zoology India*, 23, 13–21.
- Irungu, F. G., Mutungi, C. M., Faraj, A. K., Affognon, H., Kibet, N., Tanga, C., Ekesi, S., Nakimbugwe, D., & Fiaboe, K. K. M. (2018). Physico-chemical properties of extruded aquafeed pellets containing black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and adult cricket (*Acheta domesticus*) meals. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(1), 19–30. <https://doi.org/10.3920/JIFF2017.0008>
- Jobling, M. (2012). National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp. In *Aquaculture International* (Vol. 20, Issue 3, pp. 601–602). <https://doi.org/10.1007/s10499-011-9480-6>
- Kabir, M. A., Rahman, M. S., Hossain, A., & Mandal, S. C. (2015). Proximate composition and microbial quality of three imported aquarium fish feeds in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Zoology*, 42(2), 283–294. <https://doi.org/10.3329/bjz.v42i2.23371>
- Little, D. C., Newton, R. W., & Beveridge, M. C. M. (2016). Aquaculture: A rapidly growing and significant source of sustainable food? Status, transitions and potential. *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3), 274–286. <https://doi.org/10.1017/S0029665116000665>
- Lucas-González, R., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2019). Effect of drying processes in the chemical, physico-chemical, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from house cricket (*Acheta domesticus*). *European Food Research and Technology*, 245(7), 1451–1458. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03301-4>
- Ndiritu, A. K., Kinyuru, J. N., Kenji, G. M., & Gichuhi, P. N. (2017). Extraction technique influences the physico-chemical characteristics and functional properties of edible crickets (*Acheta domesticus*) protein concentrate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 2013–2021. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9584-4>
- Oloo, J. A., Ayieko, M., & Nyongesah, J. M. (2020). *Acheta domesticus* (Cricket) feed resources among smallholder farmers in Lake Victoria region of Kenya. *Food Science and Nutrition*, 8(1), 69–78. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1242>
- Oonincx, D. G. A. B., & Finke, M. D. (2021). Nutritional value of insects and ways to manipulate their composition. *Journal of Insects as Food and Feed*, 7(5), 639–659. <https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0050>
- Perera, G. S. C., & Bhujel, R. C. (2022). Replacement of fishmeal by house cricket (*Acheta domesticus*) and field cricket (*Gryllus bimaculatus*) meals: Effect for growth, pigmentation, and breeding performances of guppy (*Poecilia reticulata*). *Aquaculture Reports*, 25, 101260. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101260>
- Pilco-Romero, G., Chisaguano-Tonato, A. M., Herrera-Fontana, M. E., Chimbo-Gándara, L. F., Sharifi-Rad, M., Giampieri, F., Battino, M., Vernaza, M. G., & Álvarez-Suárez, J. M. (2023). House cricket (*Acheta domesticus*): A review based on its nutritional composition, quality, and potential uses in

- the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104226>
- Rajendra, A., Ying, D., Warner, R. D., Ha, M., & Fang, Z. (2023). Effect of Extrusion on the Functional, Textural and Colour Characteristics of Texturized Hempseed Protein. *Food and Bioprocess Technology*, 16(1), 98–110. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02923-z>
- Shearer, K. D., Maage, A., Opstvedt, J., & Mundheim, H. (1992). Effects of high-ash diets on growth, feed efficiency, and zinc status of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 106(3–4), 345–355. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90266-N](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90266-N)
- Shiau, S. Y. (1998). Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture*, 164(1–4), 77–93. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00178-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00178-1)
- Siddiqui, S. A., Osei-Owusu, J., Yunusa, B. M., Rahayu, T., Fernando, I., Shah, M. A., & Centoducati, G. (2023). Prospects of edible insects as sustainable protein for food and feed - a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 10(2), 191–217. <https://doi.org/10.1163/23524588-20230042>
- Tran, G., Heuzé, V., & Makkar, H. P. S. (2015). Insects in fish diets. *Animal Frontiers*, 5(2), 37–44. <https://doi.org/10.2527/af.2015-0018>
- Udomsil, N., Imsoonthornrukxa, S., Gosalawit, C., & Ketudat-Cairns, M. (2019). Nutritional Values and Functional Properties of House Cricket (*Acheta domesticus*) and Field Cricket (*Gryllus bimaculatus*). *Food Science and Technology Research*, 25(4), 597–605. <https://doi.org/10.3136/fstr.25.597>
- Van Peer, M., Berrens, S., Coudron, C., Noyens, I., Verheye, G. R., & Van Miert, S. (2024). Towards good practices for research on *Acheta domesticus*, the house cricket. *Journal of Insects as Food and Feed*, 5. <https://doi.org/10.1163/23524588-00001042>
- Vauterin, A., Steiner, B., Sillman, J., & Kahiluoto, H. (2021). The potential of insect protein to reduce food-based carbon footprints in Europe: The case of broiler meat production. *Journal of Cleaner Production*, 320, 128799. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128799>

El género *Bacillus* como aliado en la agricultura sostenible

Recibido en: 20/06/2024

Aprobado en: 26/06/2024

 10.46420/9786585756365cap9

Alejandro Miguel Figueroa-López^{1*} 

Rufina Hernández Martínez² 

Daniel Miramón Ortiz³ 

Edgardo López González³ 

Ernesto Uriel Cantú Soto¹ 

RESUMEN

Las prácticas agrícolas de actualidad demandan un comportamiento sostenible, ya que el incremento en la población mundial demanda un incremento en la producción de productos básicos. Una estrategia prometedora es el uso de bacterias del género *Bacillus*, este diverso grupo bacteriano ha mostrado una amplia gama de aplicaciones en la agricultura. Diversas especies han sido utilizadas como alternativas a los fertilizantes químicos siendo alternativas viables a los fertilizantes y los pesticidas sintéticos. Una característica importante de estas especies es la formación de endosporas lo que las hace muy apropiadas para el desarrollo de formulaciones para uso agrícola. Los *Bacillus* han demostrado muchos beneficios en sus aplicaciones, entre ellas la protección contra patógenos e insectos y así como promover el crecimiento de las plantas mediante su fitoestimulación. Estas especies han revolucionado la agricultura creando a base de ellas soluciones sostenibles para la gestión de enfermedades y plagas.

INTRODUCCIÓN

En el año 2022, la población mundial alcanzó los 8000 millones de personas, y en tan solo doce años la población mundial se incrementó de 7000 a 8000 millones de habitantes, posiblemente dentro de 15 años se incremente a los 9000 millones (United Nations, 2024). Proveer alimentos para la población mundial creciente será todo un reto para este siglo, la cual tendrá que ser de forma sostenible y amigable con el medio ambiente (Etesami et al., 2023).

Uno de los principales retos para el siglo XXI será el desarrollo de una agricultura sostenible y respetuosa con el medio ambiente que logre proveer alimentos a una creciente población humana venidera. Los métodos de producción agrícola en la actualidad todavía dependen en gran medida del uso

¹ Instituto Tecnológico de Sonora, Cajeme Sonora, México, CP: 85000.

² Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, México. CP: 22860.

³ Laboratorio de Investigación y Análisis de Microorganismos de Grupo Molina, Hermosillo Sonora, México. CP: 83190.

* Autor(a) correspondiente: alejandromiguel85@gmail.com

de pesticidas y fertilizantes químicos, esto genera problemas en el ambiente (Berg, 2009). Además, los patógenos vegetales emergentes, reemergentes y endémicos siguen desafiando nuestra capacidad para salvaguardar el crecimiento y la salud de las plantas en todo el mundo (Miller et al., 2009). Los tratamientos químicos han demostrado que sólo son eficaces durante un breve periodo de tiempo en la temporada de cultivo. Por otro lado, los compuestos antimicrobianos producidos por bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) han demostrado ser bastante eficaces para combatir plagas, patógenos, etc. y ser efectivos como agentes de biocontrol. Estas son un grupo de bacterias beneficiosas que viven en el suelo o colonizan la rizósfera, la filósfera o el interior del tejido vegetal (endófitos). Por lo tanto, el control biológico se han convertido en una estrategia importante para la sostenibilidad de los cultivos, y así mantenerlos libres de enfermedades que, en última instancia, faciliten la producción sostenible (Andrić et al., 2020; Zheng et al., 2013; Nagórska et al., 2007).

Recientemente, el uso de BPCV con actividad de biocontrol ha adquirido importancia en la agricultura, sobre todo aquellos que presentan actividad protectora frente a patógenos vegetales de importancia económica, lo que representa una alternativa prometedora frente a los agroquímicos (Andrić et al., 2020; Köhl et al., 2019). Las bacterias y hongos benéficos de vida libre que se encuentran en el suelo o aquellos que actúan como endófitos pueden promover el crecimiento vegetal, algunos poseen la capacidad de proteger a la planta contra enfermedades y factores abióticos favoreciendo su desarrollo (Tonelli et al., 2010). Estos microorganismos se encuentran en la rizosfera de las plantas, el sitio más activo metabólicamente debido a los exudados radicales. La rizósfera es la porción de suelo inmediato a la raíz, y aquí las plantas depositan un porcentaje de sus metabolitos fotosintéticos (entre el 10 y el 40%) enriqueciendo el suelo con nutrientes, aminoácidos y moléculas energéticas orgánicas como los carbohidratos (Vetterlein et al., 2020). Esta fertilización tiene una influencia significativa en la microbiota del suelo inmediato a la raíz. Con esto las plantas pueden ser capaces de modular los microorganismos que interactúan con ellas mediante la composición de los exudados (Nuccio et al., 2020). Cuando las plantas exudan compuestos similares, pueden atraer a ciertos grupos de microorganismos en común, a estos grupos de microorganismos que persiste en diferentes plantas se denomina microbioma central (core microbiome). Las plantas pueden exudar compuestos específicos de cada especie, esto influye a ciertos grupos de microorganismos que varían del microbioma central, formando interacciones específicas (Orozco-Mosqueda et al., 2022). Estas interacciones pueden ocurrir de diferentes formas, estimulando su crecimiento; haciendo disponible los nutrientes en el suelo; fijando nitrógeno atmosférico; suprimiendo patógenos y protegiendo las plantas de diversas enfermedades; y aumentando la tolerancia de las plantas a factores ambientales agrestes (Etesami et al., 2023; Etesami, 2020a; Egamberdieva et al., 2017).

Entre los microorganismos que se pueden asociar a las plantas y tener un efecto positivo en su crecimiento se han reportado especies de los siguientes géneros: *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, and *Serratia*. Siendo los géneros *Bacillus* y

Pseudomonas las comunidades más predominantes (Radhakrishnan et al., 2017; Figueroa-López et al., 2016) y algunas de las BPCV de estos géneros se han comercializado gracias a su supervivencia en una amplia gama de entornos bióticos y abióticos.

Bacillus spp. son un género de bacterias Gram positivas que se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza y se han aislado de en una gran diversidad de nichos en el ambiente. De ellas se han obtenido diversos productos entre los cuales destacan algunos en el ámbito medicinal, industrial y en la agricultura (Radhakrishnan et al., 2017). El potencial uso que se la ha dado a los microorganismos pertenecientes a este género incluyen el desarrollo de productos fitosanitarios y fertilizantes naturales aplicados en las áreas de la silvicultura, horticultura y agricultura (Saxena et al., 2020; Passari et al., 2018).

Dentro de la diversidad tan grande que existe en este género de microorganismos, se ha destacado por desempeñar un papel muy importante en la salud de las plantas. Los *Bacillus* como bacterias benéficas han demostrado ser verdaderos aliados en la agricultura sostenible. En este capítulo, se explora las capacidades promotoras de crecimiento vegetal y el impacto que han tenido en la agricultura.

Origen, Características y Adaptabilidad de los Bacillus

El género *Bacillus* se fue creado en el 1872 por Ferdinand Julius Cohn (Skerman et al., 1980) y dentro de este género se encuentran agrupadas 110 especies y un total 633 incluidas las subespecies (<https://lpsn.dsmz.de/genus/bacillus>). Las características principales de este género son su forma particular de bastón, son Gram positivas, aerobias o anaerobias facultativas y catalasa positivas (Miljaković et al., 2020; Whitman, 2010). Otra característica que poseen es la formación de endosporas, y esto ha obtenido especial atención de los científicos en el mundo. Estas estructuras se encuentran dentro de las más resistentes que se conocen, pueden estar latentes por periodos de tiempo muy extensos sin nutrientes (Riley et al., 2020). Estas estructuras se caracterizan por otorgarles a estas especies una resiliencia muy alta a condiciones adversas. Especies de este género, se adaptan a condiciones adversas en diversos hábitats son extremadamente resistentes a la radiación ultravioleta, el calor, la desecación, la radiación ionizante y muchas sustancias químicas tóxicas; se han usado tratamientos térmicos (80°C) para enriquecer *Bacillus* formadores de endosporas. Pueden desarrollarse en medios nutritivos en condiciones aerobias o anaerobias facultativas, y sólo unas pocas son anaerobias estrictas; presentan turbidez a las pocas horas de crecimiento en medios líquidos. Se pueden diferenciar al usar condiciones de crecimiento (nutrientes y temperatura) favoreciendo ciertas especies (Liu et al., 2023; Miljaković et al., 2020).

El suelo es una fuente común para la obtención de bacilos, existen algunas especies reportadas como patogénicas a los seres humanos, se les ha encontrado contaminando alimentos de consumo mediante la producción de toxinas termoestables, como por ejemplo *Bacillus cereus* y *Bacillus anthracis*, la

mayoría de los *Bacillus* spp. no son patógenos para el ser humano ni otros animales, y se consideran seguros para su uso en el medio ambiente (Liu et al., 2023; Bhattacharyya et al., 2016).

Del total de las poblaciones bacterianas existentes en el suelo, *Bacillus* spp. representa hasta el 95% de las bacterias Gram positivas, y de igual forma tienen mayor representación dentro de los grupos de bacterias endófitas ya reportadas (Miljaković et al., 2020).

Los Bacillus en la adquisición de nutrientes y salud del suelo.

Aquí exploraremos el papel crucial de los *Bacillus* en la salud del suelo. Desde su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico hasta su habilidad para solubilizar algunos elementos esenciales para el desarrollo de las plantas, veremos cómo estas bacterias contribuyen a la fertilidad del suelo y la disponibilidad de nutrientes para las plantas.

- **Fijación de Nitrógeno (N)**

El nitrógeno es necesario para la producción y desarrollo para las plantas. Este elemento forma parte de la molécula de clorofila (indispensable para la fotosíntesis), de los aminoácidos y por ende de las proteínas (Zayed et al., 2023). Otra función extremadamente importante es que forma parte de los ácidos nucleicos y de moléculas almacenadoras de energía en la célula como el ATP. Aunque este elemento se encuentra en la atmósfera en grandes cantidades no puede ser utilizado por las plantas, se necesitan formas asimilables de este elemento como el Amonio (NH_4^+), Amoniaco (NH_3), Nitrato (NO_3^-), Nitrito (NO_2^-), Urea [$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$] (Wagner, 2011). Otra forma de como las plantas pueden asimilar este elemento es mediante la fijación biológica del nitrógeno y solo unos pocos de procariontes pueden realizar este proceso (Wagner, 2011). Por lo tanto, la fijación de este elemento es la transformación del N_2 atmosférico en formas asimilables para la planta proporcionando una fuente de nitrógeno suficiente para las plantas.

Los microorganismos capaces de fijar nitrógeno pueden tener un comportamiento simbiótico o ser de vida libre. Varias BPCV, entre ellas especies de *Bacillus*, pueden lograr una reducción del uso de fertilizantes químicos y así incrementar el rendimiento y el crecimiento de las plantas mediante la fijación biológica de nitrógeno. Se calcula que esta fijación de nitrógeno puede ser del 12 al 70% en cultivos agrícolas y está mediada por rizobacterias (Miljaković et al., 2020). Se sabe que diversas especies de *Bacillus*, como *B. aerophilus*, *B. altitudinis*, *B. aquimaris*, *B. aryabhatai*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. circulans*, *B. firmus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. pumilus*, *B. rhizosphaerae*, *B. safensis*, *B. subterraneus*, *B. subtilis*, *B. vietnamensis* fijan nitrógeno atmosférico (Etesami et al., 2023; Saxena et al., 2020; Yousuf et al., 2017; Ambrosini et al., 2016; X. Ding et al., 2015; Ji et al., 2014). La fijación de este elemento en organismos de vida libre se logra mediante la acción de una enzima llamada nitrogenasa. Algunos estudios han mostrado que los microorganismos fijadores de nitrógeno poseen el gen *nifH*, este gen ha sido reportado

en varias especies de *Bacillus* como lo son *B. cereus*, *B. mycooides*, *B. aryabhatai*, *B. megaterium* y *B. subtilis* mediante ensayos de reducción de acetileno (Gupta et al., 2021; Ambrosini et al., 2016; Ding et al., 2005).

Algunos *Bacillus* han demostrado ser muy eficientes para fijar nitrógeno, *B. megaterium* reportada como fijadora de nitrógeno tuvo un efecto positivo en los parámetro de rendimiento en trigo (Aslam et al., 2016); la inoculación de *B. rhizosphaerae* incrementó el peso seco de plantas de caña (Madhaiyan et al., 2011); las semillas de arroz tratadas con *B. aryabhatai*, *B. megaterium* y *B. subtilis* mostraron un mejor crecimiento de la planta, mayor altura, peso seco y efectos antagonistas contra los hongos patógenos (Ji et al., 2014). Los *Bacillus* son microorganismos que pueden fijar nitrógeno atmosférico ayudando a incrementar la deficiencia de nitrógeno en el suelo.

- **Disponibilidad de Fósforo (P)**

El fósforo (P), es un elemento que en su mayoría no se encuentra disponible para las plantas. Este nutriente necesita ser transformado a una forma soluble en la que las plantas pueden absorberlo. La baja disponibilidad de este nutriente obstaculiza el crecimiento y el rendimiento de los cultivos (Etesami et al., 2023; Etesami, 2020b). Las funciones biológicas de este elemento son clave para el desarrollo de las plantas; está involucrado en reacciones de transferencia de energía a nivel bioquímico, participa en el desarrollo y elongación de las raíces, está involucrado en la resistencia mecánica de las raíces y tallos, la formación de las flores y las semillas, en la fotosíntesis, en la fijación de nitrógeno en las leguminosas, en la resistencia a las enfermedades, en el aprovechamiento del almidón y además es un elemento clave en la estructura de los ácidos nucleicos, biomoléculas responsables de los rasgos hereditarios en las plantas (Khan et al., 2023). La disponibilidad del P en suelo es limitada, H_2PO_4 y $H_2PO_4^{2-}$ son las formas en las que las plantas lo pueden absorber, sin embargo, más del 80% del fosforo que se encuentra en el suelo no está disponible (Etesami et al., 2023; Saeid et al., 2018).

Existen diversas especies de *Bacillus* con la capacidad de solubilizar fósforo en el suelo, *B. circulans*, *B. chitinolyticus*, *B. coagulans*, *B. cereus*, *B. fusiformis*, *B. pulvificiens*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. mycooides*, *B. simplex*, *B. sircalmous* y *B. subtilis* (Sharma et al., 2013). Siendo las bacterias con más representación en la rizosfera *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. pumilus* y *B. megaterium* (Saeid et al., 2018). Se mencionan en la literatura que existen algunos mecanismos por los cuales las bacterias del suelo pueden hacer biodisponible el fosforo en formas solubles, estos pueden involucrar la quelación, reacciones óxido reducción y principalmente la producción de ácidos orgánicos (solubilización de compuestos insolubles de fosfato inorgánico como fosfato tricálcico, fosfato dicálcico, hidroxapatita y roca fosfática), y también la producción de fosfatasas (para la mineralización del fósforo orgánico) (Ibarra-Galeana et al., 2017). Entre los ácidos orgánicos destacan, los ácidos láctico, propiónico, glucónico, isobutírico, acético, isocaproico, caproico, heptanoico y succínico (Saeid et al., 2018; Cheng et al., 2017; Otieno et al., 2015).

Las fosfatasas y las fitasas son dos grupos de enzimas que pueden catalizar la conversión de las formas orgánicas a formas inorgánicas de fosfatos. *B. flexus* y *B. megaterium* mostraron actividad fosfatasa

en diversas fuentes de fosfato (Ibarra-Galeana et al., 2017). Especies como *B. subtilis*, *B. licheniformis* y *B. laevolacticus* pueden producir fitasas (Farhat et al., 2008). *Bacillus* spp. pueden solubilizar fosfato en diversos sustratos, como cenizas, espinas de pescado, espinas de ave, fosfato de aluminio, fosfato de hierro y fosfato tricálcico, y esta mineralización tiene una alta correlación con la producción de ácidos orgánicos (Saeid et al., 2018; Tao et al., 2008). Los *Bacillus* que solubilizan fosfato están involucrados con un efecto positivo en parámetro de crecimiento vegetativo, germinación, rendimiento, contenido de aminoácidos, clorofila, glucosa, sacarosa, fructosa, actividades fotosintéticas y acumulación de P en diversos cultivos (Zaheer et al., 2019; Bahadir et al., 2018; Garcia-Lopez & Delgado, 2016; Mehta et al., 2015).

- **Disponibilidad de Potasio (K)**

El potasio es el tercer elemento más importante para las plantas después del Nitrógeno y el Fosforo y más del 98% de sus formas no están disponibles para las plantas. Al parecer las bacterias pueden hacer formas solubles de K mediante la producción de ácidos orgánicos (Saxena et al., 2020). Otra vía que pueden usar los *Bacillus* para solubilizar K, es la producción de polisacáridos extracelulares para disolver los minerales de K y hacerlo soluble en el suelo. Estos mecanismos ya han sido reportados en varias especies de *Bacillus* como *B. pseudomycoides*, *B. firmus*, *B. mycoides*, *B. megaterium*, *B. decolorationis*, *B. edaphicus*, *B. horikoshii*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *B. velezensis*, *B. cereus*, *B. coagulans* y *B. licheniformis* (Pramanik et al., 2020; Saha et al., 2016; Verma et al., 2015). *B. licheniformis* puede solubilizar K y producir fitohormonas (AIA=ácido indolacético), siendo capaz de soportar ambientes ácidos y alcalinos mostrando ser un efectivo bioinoculante (Saha et al., 2016). Las bacterias solubilizadoras de K suelen aplicarse con una forma mineral como los residuos de biotita (Biotita, es un grupo de minerales filosilicatos de Hierro y Magnesio, del grupo de las micas). Recientemente, *B. pseudomycoides*, fue aislada de suelos de cultivo de té del noreste de la India y se descubrió que aumentaba la disponibilidad de potasio en el suelo y la absorción en las plantas de té cuando se inoculaba con residuos de biotita (Pramanik et al., 2020). De igual forma se ha observado que *Bacillus* spp. pueden mitigar la deficiencia de K al disolver minerales ricos en éste, ayudando a incrementar los niveles de K en la planta y el redimiendo de los cultivos (Pramanik et al., 2020; Shakeel et al., 2015).

- **Disponibilidad de Hierro (Fe)**

La disponibilidad de hierro al igual que los otros elementos mencionados anteriormente, se encuentra limitada en el suelo, el Fe puede formar compuestos que no están en su forma disponible para las plantas y puede llegar a ser una limitante en la producción agrícola (Morrissey & Guerinet, 2009). Las biomoléculas que las bacterias producen para quelar Hierro se llama sideróforos. En cuanto a *Bacillus* spp. está documentado que producen moléculas del tipo hidroxamato y catecolato; entre ellos se encuentran sideróforos como la bacillibactina, la petrobactina la esquizoquina la pioverdina y la pioquelina (Khan et al., 2016). Estas moléculas actúan como quelantes de metales con bajo peso

molecular y una alta afinidad por el Hierro férrico, éstos se producen en condiciones limitantes de Hierro; se sabe que algunas BPCV producen varios sideróforos e incrementan el Fe disponible para la plantas (Singh et al., 2020).

Diversas especies de *Bacillus* están reportadas como productoras de sideróforos, entre ellos *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. velezensis*, *B. mojavensis*, *B. licheniformis*, *B. thuringiensis*, *B. halodenitrificans*, *B. cereus*, *B. anthracis* y *B. atropbaeus* (Etesami et al., 2023; Goswami et al., 2016; Ramadoss et al., 2013; Zawadzka et al., 2009). La versatilidad de los sideróforos de *Bacillus* es notable en sus múltiples aplicaciones agrícolas: pueden servir como promotores de crecimiento de las plantas, mejorando la absorción y asimilación de nutrientes, así como actuar como agentes de biocontrol, suprimiendo el crecimiento de hongos patógenos.

Estudios recientes se han enfocado en el papel que juegan los sideróforos de *Bacillus* para promover el crecimiento y el desarrollo de las plantas. Por ejemplo, se ha demostrado que *B. subtilis* produce una amplia gama de sideróforos, como la bacillibactina y la petrobactina, que no solo mejoran la disponibilidad de hierro, sino que también presentan efectos antagonistas contra diversos fitopatógenos (Timofeeva et al., 2022; Roy, 2020; Sah & Singh, 2015). Se ha descubierto que determinados sideróforos de *Bacillus* inhiben el crecimiento de hongos y bacterias patógenos de las plantas, reduciendo así la incidencia de enfermedades vegetales y mejorando el rendimiento de los cultivos (Hong et al., 2022). La utilización de sideróforos de *Bacillus* o de las cepas bacterianas que los producen son una vía prometedora para las prácticas agrícolas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

- **Disponibilidad de Zinc (Zn)**

La deficiencia de micronutrientes, particularmente el zinc, es de preocupación mundial con gran impacto en la productividad de los cultivos (Ishimaru et al., 2011). Una posible solución a la deficiencia de Zn en las plantas es el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, como las especies de *Bacillus*, que tienen la capacidad de solubilizar el Zn y disponerlo a las plantas para su absorción. Estas bacterias pueden aumentar la biodisponibilidad del Zn en el suelo, permitiendo a las plantas adquirir y utilizar mejor este nutriente esencial (Sindhu et al., 2019).

Se sabe que las bacterias solubilizadoras de Zn producen varios tipos de ácidos orgánicos e inorgánicos y compuestos quelantes, a través de los cuales se ponen a disposición de las plantas formas complejas de zinc no disponibles (Kumawat et al., 2017). Algunos *Bacillus* reportados con esta capacidad son *B. aryabhatai*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium* y *B. tequilensi* (Costerousse Benjamin et al., 2017; Shakeel et al., 2015; D. Singh et al., 2017). *B. aryabhatai* logró promover el crecimiento de trigo al ser utilizada como bionoculante además de incrementar la contracción y la movilización de diferentes sales de Zn (Ramesh et al., 2014). *B. subtilis* logró incrementar la contracción de Zn en granos de trigo hasta dos veces comparado con su control (Singh et al., 2017).

El uso de microorganismos solubilizadores de Zn pueden ser muy beneficioso en comparación con el uso de fertilizantes de Zn tradicionales, que pueden ser costosos, problemáticos para el medio ambiente y transformarse rápidamente en formas insolubles. Además, pueden mejorar el desarrollo de los cultivos y aumentar el rendimiento en los cultivos de forma sostenible.

***Bacillus* y la Protección de las Plantas**

Los *Bacillus* no solo promueven el crecimiento de las plantas, sino que también las protegen contra patógenos. En este capítulo, se discutirá cómo estos microorganismos producen una variedad de compuestos antimicrobianos que pueden incluir antibióticos, enzimas que degradan la pared celular y otras sustancias bioactivas; ayudando a la defensa de las plantas y a combatir enfermedades.

- **Producción de Compuestos Antimicrobianos**

Las bacterias pertenecientes al género *Bacillus* han sido reconocidas por su habilidad para producir una variedad de compuestos antimicrobianos que son efectivos contra un amplio rango de microorganismos patógenos (Fickers, 2012). Los metabolitos secundarios descritos con actividad antibacteriana y antifúngica son los lipopéptidos del tipo biosurfactante y existen tres principales familias: surfactinas, iturinas y fengicinas (Guzman et al., 2020; Dimkić et al., 2017). Los biosurfactantes son moléculas anfipáticas que pueden disrumpir la membrana de los microorganismos, permitiendo la lisis celular y su muerte (Guzman et al., 2020). *Bacillus* spp. tienen el potencial genómico para producir más de 2 docenas de antibióticos con un arreglo impresionante de diversas estructuras y se estima que entre el 4 y 5% del genoma de *B. subtilis* se emplea para la producción de antibióticos y parte de estos está destinada para la producción de lipopéptidos (biosurfactantes) (Penha et al., 2020).

Las iturinas presentan la mayor efectividad contra un amplio espectro de patógenos fúngicos (Penha et al., 2020). Las iturinas producidas por *B. amyloliquefaciens* PGPBacCA1 fueron capaces de inhibir la germinación de las clamidosporas y esclerocios de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia* spp., y *Rhizopus* spp., patógenos comunes presentes en semilla de *Phaseolus vulgaris* (Torres et al., 2017). Las surfactinas producidas por *B. subtilis* fueron capaces de reducir la severidad de la enfermedad del patógeno *Zymoseptoria tritici* mediante aplicaciones foliares (Mejri et al., 2018). *B. pumilus* W-7 presentó un efecto sinérgico en el control e inducción de sistema de defensa de la planta con la producción de surfactinas y fengicinas contra el patógeno de papa *Phytophthora infestans* (Y. Wang et al., 2020). Las surfactinas de *B. subtilis* en combinación de otros lipopéptidos, inhibieron un 60.9% el crecimiento de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* y en estudios de invernadero redujo la incidencia de la enfermedad en un 56.5% (Yang et al., 2018). Las fengicinas producidas por *B. subtilis* mostraron una reducción de la enfermedad causada por *Fusarium graminearum* en ensayos de laboratorio y campo en plantas de maíz (Chan et al., 2009). El uso de bacterias con capacidad de producir lipopéptidos con actividad antifúngica

presenta un enfoque sostenible para el medio ambiente en el manejo de enfermedades fúngicas en los cultivos. Al aprovechar la capacidad de estos microorganismos se puede mitigar el uso de fungicidas químicos y promover la salud y productividad de los cultivos.

- **Enzimas líticas**

Debido a la gran diversidad metabólica que poseen las bacterias del género *Bacillus*, pueden producir además de los lipopéptidos antifúngicos, enzimas líticas. Estas actúan en la degradación de componentes de la célula fúngica como lo son la quitina, proteínas y β -glucanos; y esta actividad está dada por la producción de quitinasas, proteasas y β -glucanasas (Saxena et al., 2020).

Algunos bacilos tienen la capacidad de producir estas enzimas, entre ellos, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. licheniformis*, *B. safensis*, *B. pumilus*, *B. velezensis* and *B. cereus* (Berini et al., 2018; Huang et al., 2017). La acción de estas enzimas es principalmente la afectación de la pared celular de los patógenos, está reportado la acción conjunta de enzimas proteasas, quitinasas y glucanasas pueden ser las responsables de la degradación de hifas, como es el caso de *B. turigiensis* contra *Sclerotinia minor* (Shrestha et al., 2015). *B. velezensis* se reportó como el responsable de afectar el desarrollo del patógeno *Coletotrichium gloeosporioides* mediante la producción de proteasas y glucanasas (Huang et al., 2017). En los últimos años, el género *Bacillus* se ha revelado como una fuente prometedora de enzimas líticas y compuestos antimicrobianos con un importante potencial de aplicación en entornos agrícolas.

- **Compuestos volátiles**

En los últimos años, los compuestos orgánicos volátiles producidos por los *Bacillus* han recibido especial atención (Chen et al., 2020). Estos son compuestos de bajo peso molecular que constan de hasta 20 átomos de carbono con una fracción lipofílica, alta presión de vapor y bajo punto de ebullición (Saxena et al., 2020). Esta reportado que varias especies de este género los producen, entre ellos *B. pumilus* and *B. thuringiensis*, *B. velezensis* *B. amyloliquefaciens* y *B. subtilis* (Wu et al., 2019; Gao et al., 2018; Tahir et al., 2017; Zheng et al., 2013).

El perfil de algunos compuestos volátiles producidos por *Bacillus* spp. son pertenecientes a cetonas, alcoholes, aldehídos, pirazinas, ácidos, ésteres, piridinas y benceno (Li et al., 2015). Estos compuestos presentan actividad antifúngica como lo son las piranzinas, 4-cloro-3 metil, fenol-2-4-bis y bezotiazol producidos por *B. velezensis* contra *Alternaria solani* y *Botrytis cinerea* (Gao et al., 2018). Compuesto volátiles de *B. velezensis* FZB42 y *B. atrophaeus* mostraron un efecto inhibitorio contra *R. solanacearum* (Li et al., 2015).

B. subtilis CF-3 capaz de producir 2,4-ditert-butiltiofenol y el benzotiazol, mostró un fuerte efecto inhibitorio contra *Monilinia fructicola* y *C. gloeosporioides* debido a estos compuestos (Gao et al., 2018). Massawe et al. (2018) reportan que tres especies de *Bacillus* producen compuestos volátiles con efecto inhibitorio contra *S. sclerotiorum*. Estos compuestos volátiles desempeñan papeles cruciales en las interacciones ecológicas y las aplicaciones biotecnológicas de las especies de *Bacillus*.

- **Inducción del Sistema de Defensa de las Plantas**

Las plantas son organismos sésiles, y por ende se encuentran constantemente expuestas a diversas fuentes de estrés biótico y abiótico afectando su desarrollo y productividad. Para contrarrestar estos efectos negativos las plantas han evolucionado de tal forma que adaptaron mecanismos de defensa, entre ellos está la inducción de resistencia sistémica, un sistema en el cual las especies de *Bacillus* pueden inducir y preparar a la planta para defenderse contra una amplia variedad de organismos fitopatógenos (Radhakrishnan et al., 2017).

Existen dos sistemas de respuesta a patógenos en plantas, la resistencia sistémica adquirida (SAR), la cual se activa mediante la interacción de la planta con algún patógeno o plaga en una infección localizada, y la resistencia sistémica inducida (ISR), mediada por la inducción debido a agentes externos antes de la infección (Li et al., 2017; Miljaković et al., 2020). Por lo general la ISR es desencadenada por los compuestos que producen los microorganismos que activan vías de señalización dependientes del jasmonato (JA) y etileno (ET) (Choudhary & Johri, 2009). Y la SAR está mediada por la vía de respuesta dependiente de ácido salicílico (SA), SAR también puede activar genes relacionados con defensa asociados con la producción de proteínas de patogénesis (PR) mientras que ISR se caracteriza por no activar este tipo de genes (Niu et al., 2016).

Varias especies de *Bacillus* han sido reportadas como inductoras de resistencia en plantas otorgando protección contra diversidad enfermedades, entre ellos se encuentran *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. simplex* y *B. megaterium* (Miljaković et al., 2020). *B. amyloliquefaciens* indujo resistencia dependiente de la vía de SA en plantas de tomate, redujo la incidencia del virus de la marchitez del tomate y provocó un retardo en la acumulación del Virus Y de la papa (Beris et al., 2018). *B. simplex*, provocó una activación temprana del sistema de defensa en plantas de tabaco incrementado la producción de especies reactivas de oxígeno y deposición de callosa mediante las vías de señalización de JA, ET y SA (Miao et al., 2018). *B. cereus* provocó una reducción de la incidencia de la enfermedad causada por *B. cinerea* a través de la activación de ISR (Niu et al., 2016). *B. cereus* logró inducir la producción de fenilalanina amoniaco liasa, polifenol oxidasa activando ISR en arboles de nísperos contra el patógeno *Colletotrichum acutatum* (Wang et al., 2014). *B. subtilis* promovió ISR en plantas de arroz infectadas con *Rizoctonia solani* actuando casadas de señalización relacionadas con el JA, ET, ácido abscísico (ABA) y señalización mediante la producción de auxinas (Spaepen et al., 2007).

Las especies de *Bacillus* han surgido como una prometedora estrategia para mejorar la resistencia de las plantas frente a una amplia gama de patógenos, siendo la inducción de resistencia sistémica un mecanismo de acción importante. Estos microorganismos tienen la capacidad de colonizar los tejidos vegetales, producir compuestos antimicrobianos y desencadenar respuestas de defensa, lo que los convierte en una valiosa herramienta para la agricultura sostenible y la producción de alimentos.

- **Control Biológico de Plagas**

Durante los últimos años, el control biológico ha estado enfocado en la acción de controlar o manejar una especie de plaga, por lo general un insecto que afecta a un cultivo. Las plagas de insectos son uno de los retos más importantes que enfrentan las plantas y con ellos los agricultores pueden llegar a perder cantidad importante de su producción agrícola (Dame et al., 2021).

En este sentido, ampliamente las cepas de *B. thuringiensis* (Bt) son las más utilizadas para el control de insectos y plagas, debido a la versatilidad de las toxinas que poseen con un amplio espectro insecticida (Alfonzo et al., 2012). A la fecha se tienen reportadas las proteínas Cry, Vip y Sip de Bt. Las proteínas Cry tienen la capacidad de acumularse en la célula de Bt durante la fase de esporulación mientras que otro tipo de proteínas reportadas como Vip y Sip se producen y se secretan durante la fase vegetativa del crecimiento de Bt (Domínguez-Arrizabalaga et al., 2020).

Las proteínas Cry y Cyt tienen la capacidad de cristalizarse y ser tóxicas contra un número cada vez mayor de especies de insectos de los órdenes Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera y Hemiptera, ácaros y nemátodos mientras que las proteínas Vip y Sip también presentan efectos insecticidas contra los órdenes Coleoptera, Hemiptera y Lepidoptera (Domínguez-Arrizabalaga et al., 2020; Sampurna & Mrinal, 2011; Jucovic et al., 2008).

Otro uso importante de estas proteínas es la integración a cultivos de interés mediante recombinación genética, obteniendo cultivo genéticamente modificados que pueden producir las endotoxinas de Bt adquiriendo resistencia a insectos. Varios cultivos, como la papa, el maíz y el algodón, han sido modificados genéticamente para adquirir resistencia contra insectos. Monsanto Co. logró desarrollar una planta de algodón llamado BollGard insertando el Cry2Ab, con esto logró que plagas como el gusano de la cápsula del algodón, el gusano de la cápsula del tabaco y el gusano rosado no afectaran a este cultivo (Roh et al., 2007; Saxena et al., 2020). La ventaja en el uso de esta estrategia comparado con los pesticidas tradicionales, las proteínas de Bt son muy selectivas ya que solo afectan a plagas específicas sin afectar a otros insectos como los polinizadores (Singh et al., 2019).

El uso de Bt en cultivos de interés ha demostrado un éxito destacable en la agricultura sostenible. Los insecticidas basados en Bt son amigables con el medio ambiente y una alternativa viable a los pesticidas químicos sintéticos. Además de la naturaleza selectiva de las proteínas Bt, la capacidad promotora de crecimiento vegetal y la adecuada gestión del manejo integrado de plagas es crucial para el exitoso incremento de la seguridad alimentara mundial.

CONCLUSIONES

Las especies del género *Bacillus* se han mostrado ser importantes aliados en la agricultura, con ejemplos exitosos en todo el mundo y un futuro prometedor por delante. A medida que se sigue investigando y desarrollando nuevas aplicaciones, estos microorganismos tienen el potencial de continuar

transformando la manera en que se cultivan los alimentos, fomentando sistemas agrícolas más productivos, sostenibles y resilientes. Esto se debe en gran medida a su diversidad genética y metabólica, ya que están adaptados a una amplia variedad de condiciones ambientales. Esto los hace candidatos excelentes para un sinnúmero de aplicaciones que se relacionan con el control biológico siendo candidatos para el desarrollo de productos comerciales. Actualmente existen diversos productos basados en los metabolitos producidos por estas especies o conteniendo endosporas de estas. Las especies del género *Bacillus* presentan un potencial para numerosas aplicaciones biotecnológicas en la agricultura.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfonzo, A., Lo Piccolo, S., Conigliaro, G., Ventorino, V., Burruano, S., & Moschetti, G. (2012). Antifungal peptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* AG1 active against grapevine fungal pathogens. *Annals of Microbiology*, 62(4), 1593–1599. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0415-2>
- Ambrosini, A., Stefanski, T., Lisboa, B. B., Beneduzi, A., Vargas, L. K., & Passaglia, L. M. P. (2016). *Diazotrophic bacilli* isolated from the sunflower rhizosphere and the potential of *Bacillus mycoides* B38V as biofertiliser. *Annals of Applied Biology*, 168(1), 93–110. <https://doi.org/10.1111/aab.12245>
- Andrić, S., Meyer, T., & Ongena, M. (2020). *Bacillus* Responses to Plant-Associated Fungal and Bacterial Communities. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01350>
- Aslam, S., Hussain, A., & Qazi, J. I. (2016). Dual action of chromium-reducing and nitrogen-fixing *Bacillus megaterium*-ASNF3 for improved agro-rehabilitation of chromium-stressed soils. *3 Biotech*, 6(2), 125. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0443-5>
- Bahadir, P., Liaqat, F., & Eltem, R. (2018). Plant growth promoting properties of phosphate solubilizing *Bacillus* species isolated from the Aegean Region of Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 42(2), 183–196. <https://doi.org/10.3906/bot-1706-51>
- Berg, G. (2009). Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: Perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(1), 11–18. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2092-7>
- Berini, F., Katz, C., Gruzdev, N., Casartelli, M., Tettamanti, G., & Marinelli, F. (2018). Microbial and viral chitinases: Attractive biopesticides for integrated pest management. *Prospects in Biotechnology*, 36(3), 818–838. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.002>
- Beris, D., Theologidis, I., Skandalis, N., & Vassilakos, N. (2018). *Bacillus amyloliquefaciens* strain MBI600 induces salicylic acid dependent resistance in tomato plants against *Tomato spotted wilt virus* and *Potato virus Y*. *Scientific Reports*, 8(1), 10320. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28677-3>

- Bhattacharyya, P. N., Goswami, M. P., & Bhattacharyya, L. H. (2016). Perspective of beneficial microbes in agriculture under changing climatic scenario: A review. *Journal of Phytology*, 8(0), 26–41. <https://doi.org/10.19071/jp.2016.v8.3022>
- Chan, Y.-K., Savard, M. E., Reid, L. M., Cyr, T., McCormick, W. A., & Seguin, C. (2009). Identification of lipopeptide antibiotics of a *Bacillus subtilis* isolate and their control of *Fusarium graminearum* diseases in maize and wheat. *BioControl*, 54(4), 567–574. <https://doi.org/10.1007/s10526-008-9201-x>
- Chen, K., Tian, Z., He, H., Long, C., & Jiang, F. (2020). *Bacillus* species as potential biocontrol agents against citrus diseases. *Biological Control*, 151, 104419. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104419>
- Cheng, J., Zhuang, W., Li, N. N., Tang, C. L., & Ying, H. J. (2017). Efficient biosynthesis of d-ribose using a novel co-feeding strategy in *Bacillus subtilis* without acid formation. *Letters in Applied Microbiology*, 64(1), 73–78. <https://doi.org/10.1111/lam.12685>
- Choudhary, D. K., & Johri, B. N. (2009). Interactions of *Bacillus* spp. And plants – With special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, 164(5), 493–513. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.007>
- Costerousse Benjamin, Schönholzer-Mauclaire Laurie, Frossard Emmanuel, & Thonar Cécile. (2017). Identification of Heterotrophic Zinc Mobilization Processes among Bacterial Strains Isolated from Wheat Rhizosphere (*Triticum aestivum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 84(1), e01715-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01715-17>
- Dame, Z. T., Rahman, M., & Islam, T. (2021). Bacilli as sources of agrobiotechnology: Recent advances and future directions. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 14(2), 246–271. <https://doi.org/10.1080/17518253.2021.1905080>
- Dimkić, I., Stanković, S., Nišavić, M., Petković, M., Ristivojević, P., Fira, D., & Berić, T. (2017). The Profile and Antimicrobial Activity of *Bacillus* Lipopeptide Extracts of Five Potential Biocontrol Strains. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.01500>
- Ding, X., Peng, X.-J., Jin, B.-S., Xiao, M., Chen, J.-K., Li, B., Fang, C.-M., & Nie, M. (2015). Spatial distribution of bacterial communities driven by multiple environmental factors in a beach wetland of the largest freshwater lake in China. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2015.00129>
- Ding, Y., Wang, J., Liu, Y., & Chen, S. (2005). Isolation and identification of nitrogen-fixing bacilli from plant rhizospheres in Beijing region. *Journal of Applied Microbiology*, 99(5), 1271–1281. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02738.x>

- Domínguez-Arrizabalaga, M., Villanueva, M., Escriche, B., Ancín-Azpilicueta, C., & Caballero, P. (2020). Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* Proteins against Coleopteran Pests. *Toxins*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/toxins12070430>
- Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Alqarawi, A. A., Abd_Allah, E. F., & Hashem, A. (2017). Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02104>
- Etesami, H. (2020a). Chapter 15—Plant–microbe interactions in plants and stress tolerance. En D. K. Tripathi, V. Pratap Singh, D. K. Chauhan, S. Sharma, S. M. Prasad, N. K. Dubey, & N. Ramawat (Eds.), *Plant Life Under Changing Environment* (pp. 355–396). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00018-7>
- Etesami, H. (2020b). Enhanced Phosphorus Fertilizer Use Efficiency with Microorganisms. En R. S. Meena (Ed.), *Nutrient Dynamics for Sustainable Crop Production* (pp. 215–245). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8660-2_8
- Etesami, H., Jeong, B. R., & Glick, B. R. (2023). Potential use of *Bacillus* spp. As an effective biostimulant against abiotic stresses in crops—A review. *Current Research in Biotechnology*, 5, 100128. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2023.100128>
- Farhat, A., Chouayekh, H., Ben Farhat, M., Bouchaala, K., & Bejar, S. (2008). Gene Cloning and Characterization of a Thermostable Phytase from *Bacillus subtilis* US417 and Assessment of its Potential as a Feed Additive in Comparison with a Commercial Enzyme. *Molecular Biotechnology*, 40(2), 127–135. <https://doi.org/10.1007/s12033-008-9068-1>
- Fickers, P. (2012). Antibiotic Compounds from Bacillus: Why are they so Amazing? *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 8(1), 38–43. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2012.38.43>
- Figuroa-López, A. M., Cordero-Ramírez, J. D., Martínez-Álvarez, J. C., López-Meyer, M., Lizárraga-Sánchez, G. J., Félix-Gastélum, R., Castro-Martínez, C., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. *SpringerPlus*, 5(1), 330. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1780-x>
- Gao, H., Li, P., Xu, X., Zeng, Q., & Guan, W. (2018). Research on volatile organic compounds from *Bacillus subtilis* cf-3: biocontrol effects on fruit fungal pathogens and dynamic changes during fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00456>
- García-Lopez, A. M., & Delgado, A. (2016). Effect of *Bacillus subtilis* on phosphorus uptake by cucumber as affected by iron oxides and the solubility of the phosphorus source. *Agricultural and Food Science*, 25(3), 216–224. <https://doi.org/10.23986/afsci.56862>
- Goswami, D., Thakker, J. N., & Dhandhukia, P. C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1127500. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1127500>

- Gupta, P. K., Balyan, H. S., Sharma, S., & Kumar, R. (2021). Biofortification and bioavailability of Zn, Fe and Se in wheat: Present status and future prospects. *Theoretical and Applied Genetics*, 134(1), 1–35. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03709-7>
- Guzman, J. P. M., Alba, J. M., & Torres, M. L. (2020). Isolation, screening, and characterization of biosurfactant-producing bacillus spp. From soil and their potential biofilm inhibitory activities against *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 10(2), 245–248. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.10.2.245-248>
- Hong, S., Kim, T. Y., Won, S.-J., Moon, J.-H., Ajuna, H. B., Kim, K. Y., & Ahn, Y. S. (2022). Control of Fungal Diseases and Fruit Yield Improvement of Strawberry Using *Bacillus velezensis* CE 100. *Microorganisms*, 10(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020365>
- Huang, L., Li, Q.-C., Hou, Y., Li, G.-Q., Yang, J.-Y., Li, D.-W., & Ye, J.-R. (2017). *Bacillus velezensis* strain HYE5-6 as a potential biocontrol agent against anthracnose on *Euonymus japonicus*. *Biocontrol Science and Technology*, 27(5), 636–653. <https://doi.org/10.1080/09583157.2017.1319910>
- Ibarra-Galeana, J. A., Castro-Martínez, C., Fierro-Coronado, R. A., Armenta-Bojórquez, A. D., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2017). Characterization of phosphate-solubilizing bacteria exhibiting the potential for growth promotion and phosphorus nutrition improvement in maize (*Zea mays* L.) in calcareous soils of Sinaloa, Mexico. *Annals of Microbiology*, 67(12), 801–811. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1308-9>
- Ishimaru, Y., Bashir, K., & Nishizawa, N. K. (2011). Zn Uptake and Translocation in Rice Plants. *Rice*, 4(1), 21–27. <https://doi.org/10.1007/s12284-011-9061-3>
- Ji, S. H., Gururani, M. A., & Chun, S.-C. (2014). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Special Issue on Plant Growth Promotion.*, 169(1), 83–98. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.06.003>
- Jucovic, M., Walters, F. S., Warren, G. W., Palekar, N. V., & Chen, J. S. (2008). From enzyme to zymogen: Engineering Vip2, an ADP-ribosyltransferase from *Bacillus cereus*, for conditional toxicity. *Protein Engineering, Design and Selection*, 21(10), 631–638. <https://doi.org/10.1093/protein/gzn038>
- Khan, A., Doshi, H. V., & Thakur, M. C. (2016). *Bacillus* spp.: A Prolific Siderophore Producer. En M. T. Islam, M. Rahman, P. Pandey, C. K. Jha, & A. Aeron (Eds.), *Bacilli and Agrobiotechnology* (pp. 309–323). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44409-3_13
- Khan, F., Siddique, A. B., Shabala, S., Zhou, M., & Zhao, C. (2023). Phosphorus Plays Key Roles in Regulating Plants' Physiological Responses to Abiotic Stresses. *Plants*, 12(15). <https://doi.org/10.3390/plants12152861>
- Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>

- Kumawat, N., Kumar, R., Kumar, S., & Meena, V. S. (2017). Nutrient Solubilizing Microbes (NSMs): Its Role in Sustainable Crop Production. En *Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture* (pub.1091884157; pp. 25–61). https://doi.org/10.1007/978-981-10-5343-6_2
- Li, C., Hu, W., Pan, B., Liu, Y., Yuan, S., Ding, Y., Li, R., Zheng, X., Shen, B., & Shen, Q. (2017). Rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* Strain SQRT3-Mediated Induced Systemic Resistance Controls Bacterial Wilt of Tomato. *Pedosphere*, 27(6), 1135–1146. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60406-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60406-5)
- Li, X.-Y., Mao, Z.-C., Wu, Y.-X., Ho, H.-H., & He, Y.-Q. (2015). Comprehensive volatile organic compounds profiling of *Bacillus* species with biocontrol properties by head space solid phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Biocontrol Science and Technology*, 25(2), 132–143. <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.960809>
- Liu, Y., Yue, Z., Sun, Z., & Li, C. (2023). Harnessing Native *Bacillus* spp. For Sustainable Wheat Production. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(2), e0124722. <https://doi.org/10.1128/aem.01247-22>
- Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Lee, J.-S., Lee, K.-C., & Hari, K. (2011). *Bacillus rhizosphaerae* sp. Nov., an novel diazotrophic bacterium isolated from sugarcane rhizosphere soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 100(3), 437–444. <https://doi.org/10.1007/s10482-011-9600-3>
- Massawe, V. C., Hanif, A., Farzand, A., Mburu, D. K., Ochola, S. O., Wu, L., Tahir, H. A. S., Gu, Q., Wu, H., & Gao, X. (2018). Volatile Compounds of Endophytic *Bacillus* spp. Have Biocontrol Activity Against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology®*, 108(12), 1373–1385. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-18-0118-R>
- Mehta, P., Walia, A., Kulshrestha, S., Chauhan, A., & Shirkot, C. K. (2015). Efficiency of plant growth-promoting P-solubilizing *Bacillus circulans* CB7 for enhancement of tomato growth under net house conditions. *Journal of Basic Microbiology*, 55(1), 33–44. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300562>
- Mejri, S., Siah, A., Coutte, F., Magnin-Robert, M., Randoux, B., Tisserant, B., Krier, F., Jacques, P., Reignault, P., & Halama, P. (2018). Biocontrol of the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici* using cyclic lipopeptides from *Bacillus subtilis*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(30), 29822–29833. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9241-9>
- Miao, G., Han, J., Wang, C., Zhang, K., & Wang, S. (2018). Growth inhibition and induction of systemic resistance against *Pythium aphanidermatum* by *Bacillus simplex* strain HS-2. *Biocontrol Science and Technology*, 28(12), 1114–1127. <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1514585>
- Miljaković, D., Marinković, J., & Balešević-Tubić, S. (2020). The Significance of *Bacillus* spp. In *Disease Suppression and Growth Promotion of Field and Vegetable Crops*. *Microorganisms*, 8(7), 1037. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071037>

- Miller, S. A., Beed, F. D., & Harmon, C. L. (2009). Plant Disease Diagnostic Capabilities and Networks. *Annual Review of Phytopathology*, 47(Volume 47, 2009), 15–38. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081743>
- Morrissey, J., & Guerinot, M. L. (2009). Iron Uptake and Transport in Plants: The Good, the Bad, and the Ionome. *Chemical Reviews*, 109(10), 4553–4567. <https://doi.org/10.1021/cr900112r>
- Nagórska, K., Bikowski, M., & Obuchowski, M. (2007). Multicellular behaviour and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrol agent. *Acta Biochimica Polonica*, 54(3), 495–508. PubMed.
- Niu, D., Wang, X., Wang, Y., Song, X., Wang, J., Guo, J., & Zhao, H. (2016). *Bacillus cereus* AR156 activates PAMP-triggered immunity and induces a systemic acquired resistance through a NPR1- and SA-dependent signaling pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 469(1), 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.11.081>
- Nuccio, E. E., Starr, E., Karaoz, U., Brodie, E. L., Zhou, J., Tringe, S. G., Malmstrom, R. R., Woyke, T., Banfield, J. F., Firestone, M. K., & Pett-Ridge, J. (2020). Niche differentiation is spatially and temporally regulated in the rhizosphere. *The ISME Journal*, 14(4), 999–1014. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0582-x>
- Orozco-Mosqueda, Ma. del C., Fadiji, A. E., Babalola, O. O., Glick, B. R., & Santoyo, G. (2022). Rhizobiome engineering: Unveiling complex rhizosphere interactions to enhance plant growth and health. *Microbiological Research*, 263, 127137. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127137>
- Otieno, N., Lally, R. D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K. J., & Dowling, D. N. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2015.00745>
- Passari, A. K., Lalsiamthari, P. C., Zothanpuia, Leo, V. V., Mishra, V. K., Yadav, M. K., Gupta, V. K., & Singh, B. P. (2018). Biocontrol of Fusarium wilt of *Capsicum annuum* by rhizospheric bacteria isolated from turmeric endowed with plant growth promotion and disease suppression potential. *European Journal of Plant Pathology*, 150(4), 831–846. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1325-3>
- Penha, R. O., Vandenberghe, L. P. S., Faulds, C., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2020). *Bacillus lipopeptides* as powerful pest control agents for a more sustainable and healthy agriculture: Recent studies and innovations. *Planta*, 251(3), 1–15.
- Pramanik, P., Kalita, C., Kalita, P., & Goswami, A. J. (2020). Evaluating Method of Mica Waste Application in Earthworm Cast-Treated Soil for Enhancing Potassium Availability to the Plants with Reference to Tea. En S. A. Bhat, A. P. Vig, F. Li, & B. Ravindran (Eds.), *Earthworm Assisted Remediation of Effluents and Wastes* (pp. 209–225). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4522-1_13

- Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd_Allah, E. F. (2017). *Bacillus*: A Biological Tool for Crop Improvement through Bio-Molecular Changes in Adverse Environments. *Frontiers in Physiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00667>
- Ramadoss, D., Lakkineni, V. K., Bose, P., Ali, S., & Annapurna, K. (2013). Mitigation of salt stress in wheat seedlings by halotolerant bacteria isolated from saline habitats. *SpringerPlus*, 2(1), 6. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-6>
- Ramesh, A., Sharma, S. K., Sharma, M. P., Yadav, N., & Joshi, O. P. (2014). Inoculation of zinc solubilizing *Bacillus aryabhatai* strains for improved growth, mobilization and biofortification of zinc in soybean and wheat cultivated in Vertisols of central India. *Applied Soil Ecology*, 73, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.08.009>
- Riley, E. P., Schwarz, C., Derman, A. I., & Lopez-Garrido, J. (2020). Milestones in *Bacillus subtilis* sporulation research. *Microbial Cell*, 8(1), 1–16. <https://doi.org/10.15698/mic2021.01.739>
- Roh, J. Y., Choi, J. Y., Li, M. S., Jin, B. R., & Je, Y. H. (2007). *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *Journal of microbiology and biotechnology*, 17(4), 547.
- Roy, D. (2020). Magnitude and Mechanism of Siderophore as a Potential Tool in Eco Friendly Agriculture. *International Journal of Bioresource Science*, 7(1). <https://doi.org/10.30954/2347-9655.01.2020.7>
- Saeid, A., Prochownik, E., & Dobrowolska-Iwanek, J. (2018). Phosphorus Solubilization by *Bacillus* Species. *Molecules*, 23(11). <https://doi.org/10.3390/molecules23112897>
- Sah, S., & Singh, R. (2015). Siderophore: Structural And Functional Characterisation – A Comprehensive Review. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, 61(3), 97–114. <https://doi.org/10.1515/agri-2015-0015>
- Saha, M., Maurya, B. R., Meena, V. S., Bahadur, I., & Kumar, A. (2016). Identification and characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from Indo-Gangetic Plains of India. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.06.007>
- Sampurna S. & Mrinal K. M. (2011). Molecular Characterization of a Novel Vegetative Insecticidal Protein from *Bacillus thuringiensis* Effective Against Sap-Sucking Insect Pest. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(9), 937–946. <https://doi.org/10.4014/jmb.1105.05030>
- Saxena, A. K., Kumar, M., Chakdar, H., Anuroopa, N., & Bagyaraj, D. J. (2020). *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Journal of Applied Microbiology*, 128(6), 1583–1594. <https://doi.org/10.1111/jam.14506>
- Shakeel, M., Rais, A., Hassan, M. N., & Hafeez, F. Y. (2015). Root Associated *Bacillus* sp. Improves Growth, Yield and Zinc Translocation for Basmati Rice (*Oryza sativa*) Varieties. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2015.01286>

- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1), 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Shrestha, A., Sultana, R., Chae, J.-C., Kim, K., & Lee, K.-J. (2015). *Bacillus thuringiensis* C25 which is rich in cell wall degrading enzymes efficiently controls lettuce drop caused by *Sclerotinia minor*. *European Journal of Plant Pathology*, 142(3), 577–589. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0636-5>
- Sindhu, S. S., Sharma, R., Sindhu, S., & Phour, M. (2019). Plant Nutrient Management Through Inoculation of Zinc-Solubilizing Bacteria for Sustainable Agriculture. En B. Giri, R. Prasad, Q.-S. Wu, & A. Varma (Eds.), *Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment* (pp. 173–201). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18933-4_8
- Singh, A., Bhardwaj, R., & Singh, I. K. (2019). Biocontrol Agents: Potential of Biopesticides for Integrated Pest Management. En B. Giri, R. Prasad, Q.-S. Wu, & A. Varma (Eds.), *Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment* (pp. 413–433). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18933-4_19
- Singh, D., Rajawat, M. V. S., Kaushik, R., Prasanna, R., & Saxena, A. K. (2017). Beneficial role of endophytes in biofortification of Zn in wheat genotypes varying in nutrient use efficiency grown in soils sufficient and deficient in Zn. *Plant and Soil*, 416(1), 107–116. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3189-x>
- Singh, M., Srivastava, M., Kumar, A., Singh, A. K., & Pandey, K. D. (2020). 4—Endophytic bacteria in plant disease management. In Kumar, A. & Singh, V. K. (Eds.), *Microbial Endophytes*, 61–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818734-0.00004-8>
- Skerman, V. B. D., McGowan, Vicki., & Sneath, P. H. A. (1980). Approved Lists of Bacterial Names. En *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30(1), 225–420. Microbiology Society. <https://doi.org/10.1099/00207713-30-1-225>
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
- Tahir, H. A. S., Gu, Q., Wu, H., Niu, Y., Huo, R., & Gao, X. (2017). *Bacillus* volatiles adversely affect the physiology and ultra-structure of *Ralstonia solanacearum* and induce systemic resistance in tobacco against bacterial wilt. *Scientific Reports*, 7(1), 40481. <https://doi.org/10.1038/srep40481>
- Tao, G.-C., Tian, S.-J., Cai, M.-Y., & XIE, G.-H. (2008). Phosphate-Solubilizing and -Mineralizing Abilities of Bacteria Isolated from Soils1 1Project supported by the Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, the Ministry of Education of the P.R. China. *Pedosphere*, 18(4), 515–523. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(08\)60042-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60042-9)

- Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., & Sedykh, S. E. (2022). Bacterial Siderophores: Classification, Biosynthesis, Perspectives of Use in Agriculture. *Plants*, 11(22). <https://doi.org/10.3390/plants11223065>
- Tonelli, M. L., Taurian, T., Ibáñez, F., Angelini, J., & Fabra, A. (2010). Selection and in vitro characterization of biocontrol agents with potential to protect peanut plants against fungal pathogens. *Journal of Plant Pathology*, 92(1), 73–82.
- Torres, M. J., Pérez Brandan, C., Sabaté, D. C., Petroselli, G., Erra-Balsells, R., & Audisio, M. C. (2017). Biological activity of the lipopeptide-producing *Bacillus amyloliquefaciens* PGPBacCA1 on common bean *Phaseolus vulgaris* L. pathogens. *Biological Control*, 105, 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.12.001>
- United Nations (2024). Población. United Nations. <https://www.un.org/es/global-issues/population>
- Verma, P., Yadav, A. N., Khannam, K. S., Panjiar, N., Kumar, S., Saxena, A. K., & Suman, A. (2015). Assessment of genetic diversity and plant growth promoting attributes of psychrotolerant bacteria allied with wheat (*Triticum aestivum*) from the northern hills zone of India. *Annals of Microbiology*, 65(4), 1885–1899. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-1027-4>
- Vetterlein, D., Carminati, A., Kögel-Knabner, I., Bienert, G. P., Smalla, K., Oburger, E., Schnepf, A., Banitz, T., Tarkka, M. T., & Schlüter, S. (2020). Rhizosphere Spatiotemporal Organization—A Key to Rhizosphere Functions. *Frontiers in Agronomy*, 2. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fagro.2020.00008>
- Wagner, S. (2011). Biological Nitrogen Fixation | Learn Science at Scitable. <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/biological-nitrogen-fixation-23570419/>
- Wang, X., Wang, L., Wang, J., Jin, P., Liu, H., & Zheng, Y. (2014). *Bacillus cereus* AR156-Induced Resistance to *Colletotrichum acutatum* Is Associated with Priming of Defense Responses in Loquat Fruit. *PLOS ONE*, 9(11), e112494. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112494>
- Wang, Y., Zhang, C., Liang, J., Wang, L., Gao, W., Jiang, J., & Chang, R. (2020). Surfactin and fengycin B extracted from *Bacillus pumilus* W-7 provide protection against potato late blight via distinct and synergistic mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(17), 7467–7481. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10773-y>
- Whitman, W. (2010). Berge's Manual of Determinative Bacteriology: The Firmicutes. *Systematic Bacteriology*, 19–722.
- Wu, Y., Zhou, J., Li, C., & Ma, Y. (2019). Antifungal and plant growth promotion activity of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens*. *MicrobiologyOpen*, 8(8), e00813. <https://doi.org/10.1002/mbo3.813>
- Yang, L., Han, X., Zhang, F., Goodwin, P. H., Yang, Y., Li, J., Xia, M., Sun, R., Jia, B., Zhang, J., Quan, X., Wu, C., Xue, B., & Lu, C. (2018). Screening *Bacillus* species as biological control agents of

Gaeumannomyces graminis var. *Triticici* on wheat. *Biological Control*, 118, 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.11.004>

- Yousuf, J., Thajudeen, J., Rahiman, M., Krishnankutty, S., P. Alikunj, A., & A. Abdulla, M. H. (2017). Nitrogen fixing potential of various heterotrophic *Bacillus* strains from a tropical estuary and adjacent coastal regions. *Journal of Basic Microbiology*, 57(11), 922–932.
<https://doi.org/10.1002/jobm.201700072>
- Zaheer, A., Malik, A., Sher, A., Mansoor Qaisrani, M., Mehmood, A., Ullah Khan, S., Ashraf, M., Mirza, Z., Karim, S., & Rasool, M. (2019). Isolation, characterization, and effect of phosphate-zinc-solubilizing bacterial strains on chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(5), 1061–1067. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.04.004>
- Zawadzka, A. M., Abergel, R. J., Nichiporuk, R., Andersen, U. N., & Raymond, K. N. (2009). Siderophore-Mediated Iron Acquisition Systems in *Bacillus cereus*: Identification of Receptors for Anthrax Virulence-Associated Petrobactin. *Biochemistry*, 48(16), 3645–3657.
<https://doi.org/10.1021/bi8018674>
- Zayed, O., Hewedy, O. A., Abdelmoteleb, A., Ali, M., Youssef, M. S., Roumia, A. F., Seymour, D., & Yuan, Z.-C. (2023). Nitrogen Journey in Plants: From Uptake to Metabolism, Stress Response, and Microbe Interaction. *Biomolecules*, 13(10). <https://doi.org/10.3390/biom13101443>
- Zheng, Y., Chen, F., & Wang, M. (2013). Use of *Bacillus*-Based Biocontrol Agents for Promoting Plant Growth and Health. In Maheshwari, D. K. (Ed.), *Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management* (pp. 243–258). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-33639-3_9

Trichoderma, bioinsumo para la agricultura sustentable y protegida

Recibido en: 21/06/2024

Aprobado en: 25/06/2024

 10.46420/9786585756365cap10

Georgina I. Rodríguez Muñoz¹ 

Gabriel Ramírez Pimentel¹ 

Erika Cañada Coyote¹ 

Cesar L. Aguirre Mancilla¹ 

Luis Antonio Mariscal Amaro¹ 

Mariano Mendoza Elos¹ 

Leandris Argente-Martínez² 

Ofelda Peñuelas-Rubio² 

RESUMEN

Algunas especies del género *Trichoderma* son reconocidas como excelentes bioinsumos, presentan una amplia gama de posibilidades agroecológicas e industriales, su rápida velocidad de crecimiento eficientiza su capacidad en el control biológico. Los mecanismos de acción de *Trichoderma* le confieren capacidad micoparasitaria y adelfoparasitaria, lo cual está asociado a la producción de metabolitos secundarios y enzimas líticas. Otra de las características de interés de *Trichoderma* es su producción de enzimas celulasas, las cuales son utilizadas para degradar lodo paplero y restos vegetales. *Trichoderma* es bioestimulante y bioremediador, lo que le otorga una posición preponderante en la búsqueda de alternativas viables en el bienestar de cultivos de interés comercial; muchos de los cuales se ven asolados por fitopatógenos, que han desarrollado resistencia a los agrotóxicos.

Ampliar el conocimiento acerca de hongos cosmopolitas y versátiles como *Trichoderma* spp. es contribuir a vislumbrar alternativas que contribuyan a una producción alimentaria con un diseño de agricultura sustentable, la cual es ampliamente promovida a nivel internacional por sus ventajas a la salud ambiental y humana. Esta investigación tuvo como objetivo ampliar el estado del arte sobre el conocimiento de *Trichoderma* hongo endófito que es buen competidor en suelo, promotor de crecimiento vegetal e indicador de resistencia y del que aún hay aspectos de interés a nivel biológico, ecológico y biotecnológico.

¹ Tecnológico Nacional de México/ IT de Roque, km 8, Carr. Celaya-Juventino Rosas, Celaya, Gto. C.P. 38110.

² Tecnológico Nacional de México /Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui, Bâcum, Sonora, México

INTRODUCCIÓN

La frecuencia e intensidad de pérdidas agrícolas causadas por enfermedades, plagas y desastres naturales, aumento en el año 2021, represento una pérdida económica significativa de 19, 300 millones de dólares estadounidenses. Según datos de 22 países, el porcentaje de alimentos que se pierden tras la cosecha en la agricultura industrializada durante las etapas de transporte, almacenamiento, venta en mercados internacionales y elaboración industrializada de productos, en el año 2021 fue de 13,2 % a nivel mundial, frente al 13 % del año 2016 (FAO, 2023).

Además de lo anterior se vislumbra el panorama de sequía a nivel mundial. En México en la primera quincena de marzo del año 2024, el porcentaje de cobertura con sequía moderada a excepcional a nivel nacional fue de 58.17%, aumentando un 1.53% a lo registrado a finales de febrero del mismo año (CONAGUA, 2023); Lo que sumado a la afectación del 20 y 30% de la producción agrícola anual, la cual, en muchos casos es afectada por enfermedades causadas por hongos, bacterias, nematodos, virus y plagas de insectos que han desarrollado resistencia al uso indiscriminado de plaguicidas (Dieleman, 2016); los cuales se movilizan y transfieren a través del aire, suelo y agua hacia diversos ecosistemas terrestres y acuáticos como ríos, lagos y zonas costeras (Arrona-Rivera et al., 2016). Diversos agrotóxicos se han usado indiscriminadamente a nivel internacional, registrándose más de 6,400 ingredientes activos en su elaboración, los cuales al combinarse con compuestos “inertes” resultan en más de 100,000 productos comerciales, los cuales son aplicados en los campos de cultivo, en muchos casos sin contar con el conocimiento técnico de los efectos nocivos de su aplicación (García-Hernández, 2018). Los agroquímicos causan residualidad, toxicidad, estrés oxidativo y neurotoxicidad (Gonçalves et al., 2020), Su uso excesivo ha causado una presión en la selección impuesta a diversos géneros de insectos, lo que ha propiciado la generación de genotipos resistentes (Tabashnik et al., 2008). Además de causar alteraciones fisiológicas y trastornos en el comportamiento de los organismos (Eaton y Gilbert, 2013). Afectan negativamente las funciones microbianas del suelo y sus procesos bioquímicos (Jamil, 2021), lo que repercute en la producción y suministro de alimentos a nivel internacional, además de pérdidas millonarias (Rolleri, 2021). Dicho panorama pone en riesgo la seguridad alimentaria en un contexto internacional, resulta inminente transitar hacia una agricultura consciente que contribuya a la sustentabilidad y sea capaz de abordar enfoques ecológicos congruentes con el panorama actual que enfrenta la biodiversidad, incluyendo a la especie humana (Villalobos-López et al., 2022).

La agricultura protegida pone énfasis en el uso de bioinsumos y micro-organismos biocontroladores como *Trichoderma* spp., habitante predominante en la micoflora de suelos nativos y agrícolas de diversas zonas climáticas del mundo (Benítez et al., 2004).

Las especies de *Trichoderma* juegan un rol especial en la salud de los ecosistemas (Contreras-Cornejo, 2011), presentan una amplia adaptabilidad, habitan en la rizosfera de diversos ecosistemas e

interactúa con otras especies, presentan endofitismo, micoparasitismo, e incluso adelfoparasitismo, por lo que resultan de interés agroecológico, biotecnológico y agroindustrial (Zin & Badaluddin, 2020).

Se ha documentado su resistencia a estrés oxidativo y su importante producción de compuestos bioactivos, enzimas hidrolíticas, elicitors y compuestos volátiles, lo que les confiere ser una alternativa al uso de pesticidas (Aslenis-Melo et al., 2015). *Trichoderma* spp. ha demostrado ser un buen biocontrolador de especies patógenas como: bacterias, hongos y nematodos. *Trichoderma* spp. es promotor de mecanismos activadores del sistema de defensa de las plantas, lo que contribuye al control biológico indirecto (Villalobos-Lobos et al., 2022). Se ha observado la capacidad de *Trichoderma* spp. para solubilizar nutrientes como el fósforo e inducción de la producción de reguladores de crecimiento vegetal, por lo que se le considera un excelente bioestimulante (Macheleidt et al., 2016). Además, este hongo induce en las plantas tolerancia ante diversos tipos de estrés biótico y abiótico e incluso la remediación de diversos tóxicos orgánicos e inorgánicos (metales pesados) presentes en el suelo (Babu, 2014).

Innovaciones agrícolas como lo es el uso de hongos antagonistas como *Trichoderma harzianum*, contribuyen al uso sustentable de los recursos naturales, la protección de la biodiversidad y el aumento de la resistencia de plantas al cambio climático, lo que contribuye al desarrollo de la agricultura sostenible, pues protege a los cultivos del ataque de patógenos y promueve su crecimiento (Di Lelio, 2021).

Importancia de Trichoderma en la agricultura sustentable y protegida

Actualmente se estudia la viabilidad de productos elaborados a base de microorganismos que disminuyan de forma efectiva, enfermedades en campo e invernadero (Salazar, 2011). *Trichoderma* es eficiente antagonista fitopatógeno, muy usado en la agricultura moderna, las formulaciones obtenidas mediante técnicas biotecnológicas han promovido el interés en la investigación y el desarrollo de la agricultura sostenible (Companioni-González, 2019). La cual pone en marcha estrategias y tecnologías que contribuyan al resguardo de la seguridad alimentaria mundial (Právělie, 2021). La tecnificación agrícola aplicada a los cultivos que busca un uso eficiente de recursos y promueve la sustentabilidad, es la mejor opción para mantener un control eficiente de los efectos que se manifiestan por los factores bióticos y abióticos, lo que se traduce en un aumento de la productividad, sobre todo en cultivos de hortalizas. Otra de las ventajas que tiene el uso de biocontroladores, es que hay mayor eficiencia en el uso de agua, mayor control de la producción y de la calidad de los productos, lo que se traduce en ganancias económicas (Liang, 2020).

El estudio de la diversidad de especies de *Trichoderma* en diversos hábitats naturales, permite ampliar el conocimiento sobre su aporte biotecnológico, y su importancia ecológica y agrícola (Jaklitsch & Voglmayr, 2015; Torres-De la Cruz et al., 2015).

Aspectos generales de Trichoderma

La mayoría de las especies de *Trichoderma* se desarrollan rápidamente y emiten grandes cantidades de pequeños conidios. Al inicio de su crecimiento el color que predomina es blanco, debido al crecimiento del micelio, a partir de su proceso de maduración su coloración varía de amarillo a verde por la formación de células conidiógenas enteroblásticas fialídicas. En determinadas condiciones de estrés, ya sea, lumínico, nutricional o por desecación, el micelio se diferencia en unas estructuras asexuales de resistencia denominadas clamidosporas que presentan forma globosa con pared rugosa y más gruesa que la de los conidios, y tienen gran importancia en la supervivencia del hongo, ya que son resistentes a condiciones desfavorables (Al-Any, 2018). *Trichoderma* spp. presenta alta actividad saprotrófica, el crecimiento apical puede alcanzar velocidades superiores a 1 $\mu\text{m/s}$ (Vuppala et al., 2015). Además, presenta un rápido crecimiento del micelio y abundante capacidad de esporulación, y la mayoría de sus especies son tolerantes a un rango de temperatura de 25 a 31 °C y un pH de 4 a 8 (Benítez et al., 2004), dichos parámetros pueden variar de acuerdo a los diversos aislamientos y especies. Este hongo, crece en una amplia gama de sustratos, demostrando su amplia capacidad de adaptabilidad a diferentes ecosistemas y condiciones (Elkhateeb, 2021). Coloniza una amplia gama de nichos, incluidas plantas vivas y muertas, suelo, sedimento, materia orgánica, tejido animal, entre otros (Wang & Zhuang, 2020; Nuangmek et al., 2021), Se han detectado especies de *Trichoderma* en ambientes marinos (Kim et al., 2020), su éxito adaptativo en diversas interacciones heterótrofas, incluyen la descomposición, el parasitismo e incluso el endofitismo oportunista (Karthikeyan et al., 2008).

Entre las 377 especies de *Trichoderma* que han sido identificadas, se han encontrado un aproximado de 20 a 30 especies en suelos como saprofitos oportunistas ecológicos, asociados a la rizosfera, avirulentos para las plantas y que pueden ser útiles en la agricultura (Zamioudis & Pieterse, 2012). *Trichoderma* spp, puede ser utilizado en agricultura convencional, no obstante, se debe considerar que la variación de los factores bióticos y abióticos pueden repercutir en la biología del organismo lo que presenta el riesgo de afectar su viabilidad y eficacia (Trushina et al., 2013). *Trichoderma*, es fotosensible (Domsch et al., 1980), presenta un mejor desarrollo en condiciones de luz día o UV tipo A 366 nm (Fonseca, 1998). La exposición permanente a la luz, genera una distribución constante y uniforme de conidios en el medio, mientras que la oscuridad, si bien no afecta de manera negativa el crecimiento de este hongo, no estimula el proceso de producción de conidios y por el contrario lo inhibe (Betina, 1995). Las respuestas fisiológicas tempranas inducidas por la luz dan lugar a eventos moleculares demostrado un incremento en los niveles de Adenosín monofosfato cíclico (AMPc) intracelular, la activación de la enzima ciclasa, la fosforilación de proteínas, cambios en el potencial de membrana, variaciones en los niveles de ATP y la transcripción diferencial de genes (Berrocal-Tito et al., 2000). La respuesta al estímulo luminoso en *T. atroviride* está regulada por las proteínas BLR-1 y BLR-2 (Blue Light Regulator), ortólogas a las proteínas WC-1 y WC-2 (White Collar) descritas en *Neurospora crassa* (Casas-Flores et al., 2004; Castellanos et al.,

2010). Por la homología que presenta la proteína BLR-1 con WC-1 de *N. crassa*, se ha propuesto que ésta actúa como fotorreceptor, pero se requiere de ambas proteínas para conformar el sistema activo de fotorecepción. En *Trichoderma* el complejo BLR-1/BLR-2 (BLRC) interactúa con el ADN a través de los dominios de dedo de zinc tipo GATA que contienen; regulando así la expresión génica (Casas-Flores et al., 2004). Las cepas de *T. atroviride*, nulas en los genes codificantes de las proteínas BLR-1 y BLR-2 ($\Delta blr-1$ y $\Delta blr-2$) pierden la capacidad de fotoconidiar, su desarrollo colonial se caracteriza por un micelio hialino sin conidios. Así, estas mutantes son consideradas "ciegas" al estímulo luminoso (Casas-Flores et al., 2004). El estrés nutricional también induce la formación de conidios en *T. atroviride* (Casas-Flores et al., 2006). La capacidad de solubilizar y utilizar al ión fosfato ha sido estudiada en varias especies del género *Trichoderma* y representa una ventaja de adaptación ambiental para el género (Rawat et al., 2011). Sin embargo, poco se sabe sobre el efecto que tiene este ión sobre la producción de conidios o de las rutas de transducción asociadas a la regulación del fenómeno de captación de fosfato inorgánico (Pi) en la asociación simbiótica con *Trichoderma*.

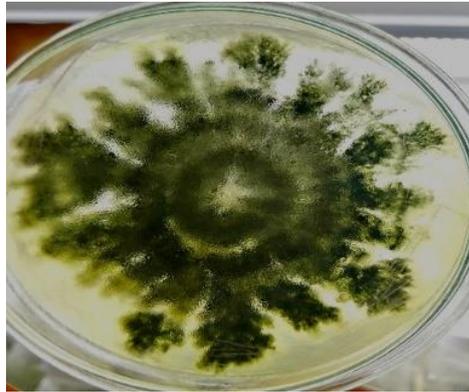


Figura 1. Crecimiento de *Trichoderma harzianum* en medio agar papa dextrosa (PDA).



Figura 2. Crecimiento de *Trichoderma harzianum* en una semilla de *Solanum lycopersicum*

La taxonomía e identificación de especies de *Trichoderma* es un tema complejo, por lo abundante de la homoplasia en los caracteres fenéticos, dado que el número de especies morfológicamente distintas es significativamente menor que el número de especies filogenéticamente distintas, reconocidas mediante

métodos de análisis de secuencias de genes (Druzhinina et al., 2006). Los métodos de identificación morfológica de especies de *Trichoderma* se han reforzados con técnicas moleculares, como la identificación de las regiones ITS1 e ITS2 separadas por el gen 5.8S del rRNA ribosomal (ITS, Internal Transcribed Spacer). El resultado es la reclasificación de cepas de este hongo (White et al., 1990; Kullnig et al., 2001; Druzhinina et al., 2006). Varias especies de *Trichoderma* han demostrado su validez como agente de biocontrol *Trichoderma* ha demostrado su eficiencia como agentes de biocontrol frente a un amplio rango de hongos fitopatógenos, lo que le confiere posicionarse como una alternativa viable al uso de agroquímicos. Los elementos traza requeridos para el crecimiento de los hongos en general incluyen hierro zinc, cobre molibdeno y manganeso en concentraciones muy pequeñas cercanas a 10^{-9} M. Dentro de las vitaminas necesarias para su desarrollo se encuentran tiamina (B6), piridoxina (B6), ácido nicotínico (B3), ácido pantoténico (B5), riboflavina (B2), cianocobalmina (B12) y ácido aminobenzoico (Agamez et al., 2008) *Trichoderma reesei*, secreta una amplia gama de enzimas que se necesitan en la descomposición de celulosa a azúcares solubles más pequeños (Zhang et al., 2012). La amplia biodiversidad del género *Trichoderma* refleja su vasta gama de enzimas involucradas en el proceso de micoparasitismo y de su modo de acción sinérgico en lo concerniente a la degradación de la pared celular de hongos fitopatógenos (Zamioudis & Pieterse, 2012).

Cepas de Trichoderma spp.

El Tecnológico Nacional de México campus Roque resguarda cepas de *Trichoderma harzianum* TH1TR001, registrada en el banco de referencia NCBI con número MH282575, las cuales fueron mutadas a través del método Metano sulfonato de etilo (MSE), en los laboratorios de posgrado del TecNMRoque (Cañada-Coyote et al., 2021). Se han realizado re-aislamientos de cuatro cepas de *Trichoderma spp.* las cuales han presentado ser agentes de bio-control y de bio-estimulación.

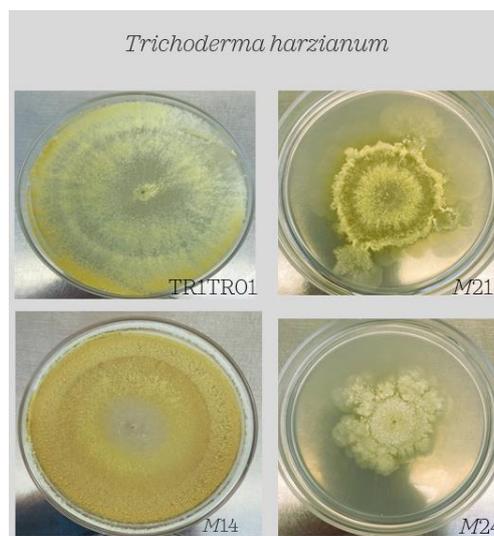


Figura 1. Crecimiento de las cepas nativa TH1TR001 y las Mutantes 14, 21 y 24 en medio Agar Papa Dextrosa (PDA)

Las cepas de *Trichoderma* spp. presentan hifas hialinas, septadas, conidióforos hialinos ramificados no verticilados, fiálides individuales o en grupo, y conidios libres de una célula nacidos en pequeños grupos terminales (Torres-De la Cruz et al., 2015). Cabe señalar que, aunque la certeza de las investigaciones genéticas es de gran apoyo para la identificación taxonómica de estos hongos saprofitos (García-Nuñez et al., 2007) la caracterización morfológica continúa siendo una importante herramienta para diversos estudios.

Mecanismos de acción de Trichoderma spp.

Las características antagónicas que presentan las especies de *Trichoderma* spp, se basan en sus mecanismos de acción, dentro de los que resaltan la competencia por nutrientes o espacio, el micoparasitismo y la antibiosis, estos tres mecanismos no son excluyentes, sino que actúan sinérgicamente en el control de los patógenos (Harman, 2000). *Trichoderma* coloniza la rizosfera de las plantas, consume exudados que son segregados en ese microecosistema. La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, carbohidratos no estructurales y microelementos (Borges Chagas et al., 2017). La actividad antifúngica de *Trichoderma* se conoce con el termino de micoparasitismo o micotrofismo los cuales implica el crecimiento trófico del agente de biocontrol hacia el hongo objetivo, el reconocimiento del patógeno mediado por una lectina y la adherencia de las hifas en torno al patógeno mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos u apresorios, en los que se llevan a cabo mecanismos enzimáticos que penetran y disuelven la pared celular, la vacuolización y desintegración del citoplasma dando lugar a la lisis celular de los hongos fitopatógenos (Zin, 2020).

Durante la antibiosis actúan enzimas hidrolíticas como: proteasas, quitinasa y β -1-3 glucanasa causando la desintegración de la pared celular en las hifas del patógeno, para luego ser parasitadas por *Trichoderma*, (Harman, 2000). Así también se ha estudiado la secreción de la enzima exo- α -1,3 glucana y endo- β -1,6 glucanasa por el hongo *T. harzianum*; estas enzimas muestran actividad lítica y antifúngica contra fitopatógeno, degradan las hifas y desorganizan las estrategias de ataque que los patógenos despliegan contra plantas, produciendo un efecto adverso en la diferenciación y desarrollo de los fitopatogenos (Guigón-López & González-González, 2003; Michel-Aceves et al., 2008).

Algunas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, con actividad antimicrobiana y defensa vegetal, destacando diterpenos tetracíclicos (por ejemplo, harziandiona), sesquiterpenos (por ejemplo, tricotecenos, tricodermin, y harzianum A), y el triterpeno viridina (Zeilinger et al., 2016), algunos inhiben el desarrollo de microorganismos patógenos e incluso nematodos. Se ha descrito que *Trichoderma* spp. produce numerosos antibióticos como gliotoxina, viridina trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina y trichotecenos (Vargas et al., 2014, Zeilinger et al., 2016).

También producen enzimas de interés industrial, como celulasas, xilanasas y lacasas, las cuales pueden ser utilizadas para la degradación de materiales lignocelulósicos, como la paja, el bagazo o el papel, y para el tratamiento de efluentes contaminados con compuestos fenólicos o colorantes (Hernández-Melchor 2019). Se ha purificado, caracterizado y clonado una proteína extracelular de *Trichoderma asperellum*, con actividad x-1,3-glucanasa, que es distinta a otras glucanasas descritas, que se induce específicamente en condiciones de micoparasitismo y de la que se derivan importantes aplicaciones industriales y agrícolas (Abbasi et al., 2016). *Trichoderma* spp, contribuye a solubilizar y absorber elementos nutritivos para la planta como: P, Fe, Mn, Cu, Ca, Zn y N (Vinale et al., 2013), otras especies de este hongo producen ácidos orgánicos (glucónico, fumárico, y cítrico) que pueden disminuir el pH del suelo y propiciar la solubilización de fosfatos, magnesio, hierro y manganeso, los cuales son vitales para el metabolismo vegetal (Sharma et al., 2017).

Dentro de las especies de *Trichoderma* más importantes como agentes de biocontrol hacia fitopatógenos se encuentran: *T. reesei*, *T. koningii*, *T. asperellum*, *T. viride*, *T. harzianum*, *T. aureoviride*, entre otros (Brito et al., 2020; Alfiky & Weisskopf, 2021). Produce fitohormonas que promueven crecimiento en plantas, (auxinas y giberilinas) promueven la remediación de diversos tóxicos orgánicos e inorgánicos del suelo como metales pesados (Nykiel-Szymanska et al., 2018). En cepas de *Trichoderma virens* se han encontrado sustancias como viridiol, antibiótico esteroide inhibidor de la PI3-cinasa (fosfoinositol 3-cinasas) que presenta propiedades antifúngicas y fitotóxicas (Jaklisch et al., 2006), se ha reportado que *T. atroviride*, promueve el crecimiento de plantas de jitomate (*Solanum lycopersicum*) (Graven et al., 2007).

Existe una evidente influencia de la temperatura en *T. afroharzianum* y *T. atroviride* para promover propiedades que coadyuvan a mejorar las barreras contra los insectos en plantas (Di Lelio, 2021). La aplicación de esporas de *T. harzianum* en frutos de algunas plantas, disminuye la severidad de enfermedades de forma significativa, se ha encontrado que a mayor concentración de esporas los efectos son mayores (ElKatatny et al., 2021). *Trichoderma* spp. ha sido usada como tratamiento en la semilla, raíz y suelo para reducir la severidad de enfermedades. Los avances en investigaciones sobre mutación genética han reportado que las mutantes obtenidas de *Trichoderma*, demuestran una pronunciada actividad de biocontrol contra fitopatógenos transmitidos por el suelo (Abassi, 2016). Varios estudios han demostrado que inóculos simples, pueden ser efectivos agentes de control biológico (ACB), investigaciones recientes muestran que el uso de asociaciones de dos o más microorganismos puede producir efectos aditivos o sinérgicos (Azeem et al., 2021). Dicho comportamiento se ha observado especialmente en microorganismos aplicados en la rizosfera, cuyos efectos benéficos sobre las plantas se pueden explicar por una mejora en la disponibilidad de nutrientes, la modulación por fitohormonas, el biocontrol o la tolerancia a estrés biótico y abiótico. Aglutinación de especies de *Trichoderma* y rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas (PGPR por sus siglas en Inglés) y de hongos micorrícicos con PGPR han demostrado ser eficaces en el control de enfermedades en las plantas (Santoyo et al., 2021).

Tabla 1. Mecanismos de solubilización reportados por diferentes autores para *Trichoderma* en fuentes de P empleada

Especie	Fuente de fosforo	Mecanismo de solubilización
<i>T. reesei</i> (Bader, 2020)	FePO ₄ AlPO ₄ Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH)	Producción de ácidos orgánicos, producción de enzimas fosfatásicas acción de quitina y otros metabolitos
<i>T. pinnatum</i> (Chagas, 2016)	FePO ₄ AlPO ₄ Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH)	Producción de ácidos orgánicos, producción de enzimas fosfatásicas, secreción de metabolitos quelantes, producción de sideróforos.
<i>T. asperellum</i> (Chagas 2016)	FePO ₄ AlPO ₄ Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH)	Producción ácidos orgánicos, producción de enzimas fosfatásicas, transportadores de fosfato, interacciones con otros microorganismos.
<i>T. viride</i> (Chagas 2016)	FePO ₄ AlPO ₄ Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH)	Producción ácidos orgánicos, Producción de enzimas fosfatásicas, transportadores de fosfato, interacciones simbióticas.
<i>T. harzianum</i> (Bader 2020; Chagas 2016)	Ca ₃ (PO ₄) ₂ Hirapur RP FePO ₄ AlPO ₄ Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH)	Producción ácidos orgánicos, Producción de enzimas fosfatásicas, transportadores de fosfato, interacciones simbióticas.
<i>T. longibrachiatum</i> (Chagas 2016)	FePO ₄ AlPO ₄ Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH)	Producción ácidos orgánicos, Producción de enzimas fosfatásicas, transportadores de fosfato, interacciones simbióticas.

Varios estudios sugieren que la fotomorfogénesis depende del estado metabólico de las hifas en crecimiento, composición del medio de cultivo y de la especie de *Trichoderma* empleada (Steyaert *et al.*, 2010). El fosfato, como nutriente esencial podría tener un impacto sobre la fotoconidiación de estas especies de hongos. Sin embargo, se ha observado que *Trichoderma* spp., no supera valores de solubilización de P mayores al 20%, la limitación del ión fosfato resulta un factor de estrés desencadenante del programa de conidiación en *T. atroviride*. Es posible que el déficit de este ión se traduzca en un cambio en el estado redox intracelular como se ha sugerido para otros nutrientes esenciales (Friedl *et al.*, 2008), la respuesta de este estímulo no parece estar ligada a la actividad de las proteínas BLR, previamente asociadas con la fotoconidiación, sin embargo, la vía que señala el deficit de P podría interactuar con aquella asociada a la percepción de luz en algún otro elemento que permita amplificar la señal y desencadenar la producción de conidias en *T. atroviride* (Osorio *et al.*, 2013), *Trichoderma* spp,

presenta además de su capacidad de solubilización de P, otras características como promotor de crecimiento como la síntesis de ácido indolacético (IAA) (Bader,, 2020).

Trichoderma presenta la capacidad de secretar variedad de ácidos orgánicos, como ácido cítrico, ácido óxalico y ácido málico, dichas sustancias tienen la capacidad de quelatar el fósforo insoluble del suelo, lo que facilita su solubilización que es asimilable por plantas. Las enzimas producidas por *Trichoderma* como la fosfatasa ácida y alcalina, coadyuban en la liberación del fósforo de los compuestos orgánicos e inorgánicos del suelo, lo que facilita la liberación y absorción por parte de las plantas.

Trichoderma spp. y su interacción con elicitores

El uso de elicitores, ayuda a consolidar una agricultura más sostenible y sin efectos adversos a la salud del consumidor, los elicitores pueden estimular compuestos estructurales que interactúan con el metabolismo propio de las plantas, con la finalidad de producir compuestos que derivaran en rasgos agronómicos deseados, como: metabolitos secundarios de uso nutracéutico o moléculas señalizadoras. *Trichoderma harzianum* presenta interacciones beneficiosas con las plantas, induce resistencia sistémica a patógenos y libera compuestos que promueven el crecimiento de las plantas y el desarrollo de las raíces (Cai et al., 2015).

La colonización de plantas por dicho hongo modula hormonas vegetales endógenas y enzimas antioxidantes, solutos compatibles, fitoalexinas y compuestos fenólicos (Carvalhois et al., 2015). Se ha documentado que *T. harzianum* modifica la arquitectura de la raíz, y una mayor producción de raíces laterales, lo que permite un mejor aprovechamiento de agua y nutrientes, así como, la activación de vías de defensa por parte de la planta (Samolski et al., 2012; Halifu et al., 2019). Las plantas tienen la capacidad de percibir la presencia de microorganismos a través de varias vías que tienen que ver con la interacción planta-microorganismo, entre ellas están las proteínas efectoras, metabolitos secundarios y ARN pequeños (Ortíz-Castro et al., 2009; Ramírez-Valdespino et al., 2019). En la interacción planta-*T. harzianum*, una de las vías de reconocimiento son las moléculas efectoras producidas por el agente de biocontrol como son la proteína Sm1 que induce la expresión de los genes relacionados con la defensa, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la biosíntesis de compuestos fenólicos (Salas-Marina et al., 2015). Las celulasas Thph1 y Thph2 inducen genes relacionados con la defensa de las plantas activando la producción de ROS al ser aplicadas vía foliar (Saravanakumar et al., 2016). ThPG1 participa en la colonización de las raíces de las plantas por parte de *Trichoderma*. Uno de los grupos de proteínas más extensos con actividad enzimática producidos por *Trichoderma* son las glicosil hidrolasas a las cuales pertenece la xilanasa (Gutiérrez-Rojas et al., 2015). La proteína Eix desencadena la biosíntesis de la proteína ET y la respuesta hipersensible en la planta, activa la hidrofobina HBF2-6 que participa en la colonización de las raíces y la inducción de las vías ácido jasmónico y ácido salicílico, además de tener

una regulación positiva de los genes relacionados con la señalización de auxinas (Ramírez-Valdespino et al., 2019).

Las proteínas secretadas por *Trichoderma* juegan un papel crucial en el establecimiento de contacto con las raíces, la penetración a estas y la activación de la respuesta de la planta. En la interacción de *Trichoderma* con las raíces de plantas, se ha demostrado que la sacarosa presente en los exudados de las raíces es importante en la atracción del hongo. La unión a las raíces está mediada por proteínas similares a la hidrofobina y las swolleninas secretadas junto con las enzimas que degradan la pared celular de las plantas, facilitando la internalización de las hifas fúngicas (Mendoza-Mendoza et al., 2018). Las señales del hongo patógeno activan la vía de señalización en *Trichoderma* a través de proteínas G heterotriméricas y proteínas cinasas (MAPK) activando la producción de enzimas hidrolíticas, metabolitos antifúngicos y la formación de estructuras de infección. También se ha encontrado al AMPc como parte de la vía de señalización involucrada en el enrollamiento asociado al micoparasitismo y la producción de quitinasa, así como al metabolismo secundario (Zeilinger & Omann, 2007). La defensa de las plantas al ataque tanto de hongos fitopatógenos como de plagas, está influenciada por un gran número de inductores que le permite tolerar el estrés tanto biótico como abiótico. Los reguladores del crecimiento como el ácido salicílico, el ácido jasmónico y el metiljasmonato son moléculas muy importantes en el desarrollo de las plantas y en la inducción de defensa de las plantas a diversos tipos de estrés, además de inducir la expresión de enzimas que catalizan la generación de varios compuestos de defensa como polifenoles, alcaloides y proteínas (Singh & Gautam, 2013). Una alternativa actualmente en boga para el manejo de enfermedades de plantas es la inducción de la resistencia sistémica de la planta a través de la aplicación de agentes bióticos y abióticos, ya sea, vía foliar o la aplicación en el suelo. Se ha documentado que la interacción de agentes de biocontrol con inductores químicos tiene una mejor respuesta en la protección de las plantas contra patógenos o condiciones desfavorables del medio ambiente (Zehra et al., 2017).

Trichoderma spp. bioinsumo agrícola e industrial.

El uso de *Trichoderma* spp. como inoculante biológico en semillas y suelo promueven el crecimiento vegetal, favorecen el aprovechamiento de los nutrientes en asociación con la planta y su rizosfera (Howell, 2003). *Trichoderma* spp. además de aumentar la biodisponibilidad de nutrientes que pueden ser asimilados por las plantas como el fósforo (Cañada-Coyote, 2021), mediante mecanismos quelantes y reductores, facilita que los minerales sean asimilados con mayor eficiencia por las plantas inoculadas con *Trichoderma* (Alatorre et al., 1999). Coadyuba en la velocidad de los procesos fisiológicos que influyen sobre la absorción de nutrientes, lo que se traduce en un aumento en el rendimiento de los cultivos (Kumar et al., 2010).

Trichoderma reesei, ha sido usada en fermentaciones sólidas para la producción de celulosas y algunas otras enzimas hidrolíticas de alto valor añadido en la industria alimentaria, papelera y textil, como es el

caso de las celulasas, las cuales son de interés debido a su aplicación en la obtención de bioetanol (Centeno-Rumbos, 2015). Algunos antibióticos y otros metabolitos secundarios generados por *Trichoderma* son de interés alimentario (como saborizantes), son buenos productores celulares para la expresión de proteínas heterólogas de interés farmacéutico e industrial (Naemi et al., 2020).

Debido a su gran diversidad metabólica, *Trichoderma* es capaz de degradar compuestos altamente recalcitrantes, como polifenoles o algunos insecticidas (Kartal, 2004). Los metabolitos secundarios no son esenciales para el establecimiento y crecimiento de *Trichoderma*; sin embargo, juegan un papel muy importante en la detección, señalización y ataque de los microorganismos del entorno (Macheleidt et al., 2016). Algunas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos volátiles que le permiten controlar a los hongos fitopatógenos sin estar en contacto directo con ellos, como el ácido harziánico, el 6-pentil pirona, los pentabioles y la viridina entre otros, por lo que estas cepas son consideradas excelentes agentes de biocontrol (Li et al., 2018; Manganiello et al., 2008). El hongo endófito produce factores de virulencia, como exoenzimas y metabolitos fitotóxicos, mientras que la planta produce defensas, tanto mecánicas como bioquímicas. Las plantas inoculadas con *Trichoderma* exhiben un marchitamiento retardado, mayor conductancia estomática, mayor contenido de clorofila en las hojas y mayores niveles netos de fotosíntesis en condiciones de estrés por déficit de agua (Bae et al., 2009), a través de un aumento en el crecimiento de la raíz, mejorando la eficiencia fotosintética, la absorción de nutrientes y protegiendo a la planta del daño oxidativo y eliminando de manera más eficiente las especies reactivas de oxígeno (Guler et al., 2016; Poosapati et al., 2014). Los aislamientos de *Trichoderma* spp. confieren tolerancia al estrés por sequía mediante la promoción del crecimiento de raíces secundarias que confieren una penetración más profunda de las raíces en el perfil del suelo (Contreras-Cornejo et al., 2009; Pandey et al., 2016).

La inoculación de semillas de arroz con aislados de *T. harzianum* promueve la tolerancia alivia los efectos del estrés salino en dichas plantas (Rawat & Tewari, 2011). Se reporta que plantas de calabaza tratadas con *T. harzianum* fueron más tolerantes a la salinidad en comparación con las plantas control (Ahmad et al., 2015). Se ha demostrado una mayor tolerancia al estrés climático en plantas inducida por *Trichoderma* (Mastouri et al., 2010; Redman et al., 2011; Ghorbanpoura et al., 2018).

***Trichoderma* alternativa a los fungicidas químicos**

Desde la revolución industrial los agroquímicos han sido usados por su efectividad para la prevención de parásitos como *Fusarium wilt*, sin embargo, hay evidencia de resistencia por parte de especies patógenas que atacan a los cultivos comerciales, Los agroquímicos afectan negativamente las funciones microbianas del suelo y sus procesos bioquímicos (Jamil, 2021). La alteración en la diversidad y composición microbiana beneficiosa puede ser desfavorable para los suelos (Meena et al., 2020), lo que ocasiona la disminución en el rendimiento de los sistemas de producción agrícola, y el aumento de enfermedades causadas por patógenos, lo que resulta en merma de los cultivos y pérdidas económicas

para los agricultores (Rolleri, 2021). Otros de los factores que afectan a los cultivos son: el alto costo de insumos, la falta de capacitación y asistencia técnica, el desplazamiento de especies nativas, la disminución de la calidad y el estado físico- químico y biótico de los suelos, lo que afecta la fertilidad de los mismos (Brooke, 2018). Los insecticidas químicos utilizados para el control de plagas y enfermedades en la producción agrícola han generado resistencia, contaminación del medio ambiente y daños a la salud debido a su producción y aplicación (Harman et al., 2004). Especies de *Trichoderma* son efectivas en el biocontrol de hongos fitopatógenos en los cultivos con importancia económica (Zin, 2020). *Trichoderma* se ha usado principalmente para el control de *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* entre otros (Mallikharjuna et al., 2016).

Otra propiedad importante de *Trichoderma* es su capacidad de absorber nitrógeno, reduciendo la contaminación de aguas superficiales y subterráneas por nitratos, que es una consecuencia adversa del cultivo del maíz a gran escala, además de disminuir los costos de producción (Zafra et al., 2015; Vázquez et al., 2015).

El bioinsumo *Trichoderma* puede ser compatible con clorpirifos, tiabendazol y oxicarboxin, el uso combinado de agroquímicos y bioinsumos en cultivo como el frijol es factible, siempre y cuando el momento de aplicación del último sea acorde a la vida media del químico y se incremente el contenido de materia orgánica del suelo (Aslenis Melo, 2015). A nivel comercial el 60 % de las formulaciones utilizadas para el control de hongos fitopatógenos se basa en *Trichoderma* (Verma et al., 2007). Estos hongos soportan condiciones de estrés durante su uso (Leng et al., 2011). Sin embargo, a nivel industrial, aún se refinan técnicas que mantengan la viabilidad y eficiencia de los conidios lo que se traduzca en una vida prolongada en anaquel.

Biotecnología de la vida de anaquel de Trichoderma

El manejo de sustratos, así como de parámetros físicos y químicos inducen la capacidad de tolerancia de las esporas de *Trichoderma* spp. a bajos porcentajes de humedad, lo que aumenta la concentración de polioles y carbohidratos del grupo de los disacáridos como: la trehalosa (Gancedo & Flores, 2004). Dicho compuesto orgánico es un protector que actúa en condiciones de estrés abiótico promoviendo en las plantas resistencia al estrés *in vivo* (Iturriaga et al., 2009).

La trehalosa es un disacárido no reductor formado por dos moléculas de glucosa que es sintetizado por bacterias, plantas, insectos y hongos e intervienen en la respuesta al estrés, actuando como osmoprotector de las proteínas y las membranas celulares durante la desnaturalización provocada por el estrés osmótico y temperaturas extremas. Los niveles de trehalosa presentes en la célula dependen de su etapa de crecimiento y nutrición (Suárez et al., 2015).

En los hongos, la función de la trehalosa es como carbohidrato de reserva, encontrándose en células, esporas y estructuras de reposo vegetativo donde puede constituir hasta el 15 % del peso seco,

además de ser un metabolito antiestrés (Al Bader et al., 2010). También la trehalosa es una importante fuente de energía en el desarrollo de los hongos, ya que se utiliza en los procesos celulares como las glucólisis, la esporulación, y la germinación. En la levadura del pan (*Saccharomyces cerevisiae*) se encontró una vía de producción de trehalosa en la que interviene dos enzimas la trehalosa-fosfato-sintasa (TPS) que produce trehalosa-6-fosfato (T6P) a partir de glucosa-6-fosfato y UDP-glucosa; y la trehalosa-fosfato-fosfatasa (TPP) que genera trehalosa al desfosforilar a la T6P (Gancedo y Flores, 2004). Esta ruta es conocida como TPS/TPP, aunque no es la única, ya que en bacterias existen cinco vías diferentes para la obtención de la trehalosa, entre ellas la vía TreY/TreZ donde interviene la malo-oligosil-trehalosa sintasa y la maltooligosil-trehalosa hidrolasa, pero en hongos solo existe la vía TPS/TPP (Avonce et al., 2006). La enzima citosólica es llamada trehalasa neutra por su pH óptimo de 7, mientras que el pH óptimo de la proteína vacuolar es de 4.5, por lo que, fue denominada trehalasa ácida (Leng et al., 2011). Las propiedades que muestra la trehalosa la han convertido en un importante producto biotecnológico, con múltiples aplicaciones por lo que ofrece una nueva estrategia para mejorar la termotolerancia de conidios a través de herramientas para la transformación de microorganismos. Actualmente se continúa la investigación sobre los distintos medios de conservación de conidios de *Trichoderma harzianum* y su eficacia de su uso en diversos sustratos y ambientes.

CONCLUSIONES.

En base a la revisión documental se concluye que especies del género *Trichoderma* presentan ventajas tanto en su producción, como en su uso ya que su fisiología le confiere tener capacidades únicas que le hacen ser un excelente biocontrolador, bioestimulante y biorremediador, lo cual lo posiciona como un grupo de hongos filamentosos de uso en la restauración de suelos y en la producción de especies vegetales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo al Tecnológico Nacional de México/IT de Roque (TecNM-Roque) y al Sistema Nacional de Posgrados de CONAHCYT por la beca otorgada a G.I. Rodríguez-Muñoz para estudios de posgrado.

BIBLIOGRAFÍA

Abbasi, S., Safaie, N., Shams-Bakhsh, M., & Shahbazi, S. (2016). Biocontrol activities of gamma induced mutants of *Trichoderma harzianum* against some soilborne fungal pathogens and their DNA fingerprinting. *Iran Journal of Biotechnology*, 14, e1224.

- Agamez-Ramos, E., Zapata-Navarro, R., Oviedo-Zumaque, L., & Barrera-Violeth, J. (2008). Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp. rev. Colomb. Biotecnol., 10(2), 23-24
- Ahmad, P., Hashem, A., Abd-Allah, E., Alqarawi, A., Difuza, J., Egamberdieva, D., & Gucl, S. (2015). Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) through antioxidative defensesystem. Front. Plant Sci., 6, 868.
- Al-Ani, L. K. T. (2018). *Trichoderma* from extreme environments: Physiology, diversity, and antagonistic activity. In Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications, 8, 389-403.
- Alatorre, C., Bjorkman, T., & Harman, G. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. Environ. Microbiol., 65, 2926-2933.
- Alfiky, A., & Weisskopf, L. (2021). Deciphering *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for better development of biocontrol applications. Journal of Fungi, 7(1).
- Arrona-Rivera, A. E., Enríquez, P. L., García-Feria, L. M., Alvarado-Orellana, S., & Rendón von Osten, J. (2016). Organochlorine pesticides in the ferruginous pygmy owl (*Glaucidium brasilianum*) in Chiapas, México. Bull. Environ. Contam. Tox., 97(3), 337-345.
- Aslenis-Melo, R., Ariza, P., Lissbrant, S., & Adriana Tofiño, A. (2015). Evaluation of agrochemicals and bioinputs for sustainable bean management on the Caribbean coast of Colombia. Agron. Colomb., 33(2).
- Avonce, N., Mendoza-Vargas, A., Morett, E., & Iturriaga, G. (2006). Insights on the evolution of trehalose biosynthesis. BMC Evol. Biol. 6, 109.
- Ayala, A. (2008). Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. Rev. Chapingo Serie Horticult, 14, 185-191.
- Azeem, S., Agha, S. I., Jamil, N., Tabassum, B., Ahmed, S., Raheem, A., & Jahan, N. (2022). Characterization and survival of broad-spectrum biocontrol agents against phytopathogenic fungi. Rev Argen Microbiol., 54, 233--42,
- Bader, A., Salerno, G., Covacevich, F., et al. (2020). Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Journal of King Saud University-Science, 32(1), 867-873.
- Bae, H., Sicher, R., Kim, M., Kim, S., Rachel. M., Melnick, L., & Bailey. B. (2009). The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. Journal of Experimental Botany, 60(P), 3279–3295.
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. Internat. Microbiol., 7, 249-260.

- Berrocal-Tito, G. M., Rosales-Saavedra, T., Herrera-Estrella, A., & Horwitz, B. (2000). Characterization of blue-light and developmental regulation of the photolyase gene *phr-1* in *Trichoderma harzianum*. *Photochem. Photobiol.*, 71, 662–668.
- Betina, V. (1995). Photoinduced conidiation in *Trichoderma viride*. *Folia Microbiologica*, 40(3), 219-224.
- Borges-Chagas, L. F., Chagas Junior, A. F., Ribeiro Fidelis R., Rodrigues de Carvalho Filho, M., & de Oliveira Miller, L. (2017). *Trichoderma asperellum* efficiency in soybean yield components. *Comun. Sci.*, 8, 165-169.
- Brito, R. A. S., Cavalcante, G. P., Stock, V. M., Colman, A. A., dos Santos, D. P., Sermarini, R. A., & Maffia, L. A. (2020). *Trichoderma* species show biocontrol potential against *Ceratocystis* wilt in mango plants. *European Journal of Plant Pathology*, 158(3), 781-788.
- Brooke, Picket, M., & Aronson E. (2018). Impacts of Invasive Plants on Soil Fungi and Implications for Restoration. *Diversity and Ecology of invasive plants*.
- Cai, F., Chen, W., Wei, Z., Pang, G., Li, R., Ran, W., & Shen, Q. (2015). Colonization of *Trichoderma harzianum* strain SQR-T037 on tomato roots and its relationship to plant growth, nutrient availability, and soil microflora. *Plant Soil*, 388, 337-350.
- Cañada-Coyote, E., Ramírez-Pimentel J, G., Aguirre-Mancilla, C.L., Raya-Pérez, J.C., Acosta-García, G., & Iturriaga, G. (2021). *Trichoderma harzianum* mutants enhance antagonism against phytopathogenic fungi, phosphorus assimilation and drought tolerance in Jalapeño pepper plants. *Chilean Journal of Agricultural Research.*, 81, 270-280.
- Casas-Flores, S., Rios-Momberg, M., Bibbins, M., Ponce-Noyola, P., & HerreraEstrella, A. (2004). BLR-1 and BLR-2, key regulatory elements of photoconidiation and mycelial in *Trichoderma atroviride*. *Microbiology.*, 150, 3561-3569.
- Casas-Flores, S., Rios-Momberg, M., Rosales-Saavedra, T., MartínezHernandez, P., Olmedo-Monfil, V., & Herrera-Estrella A. (2006). Cross talk between a fungal blue-light perception system and the cyclic AMP signaling pathway. *Eukaryot. Cell.*, 5, 499-506.
- Centeno-Rumbos, R., & Pavone-Maniscalco D. (2015). Producción de celulastas y biomasa del hongo *Trichoderma reesei* utilizando lodo papelerero como fuente de carbono. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 35(1).
- Chagas, B., et al. (2016). Efficiency of *Trichoderma* spp. as a growth promoter of cowpea (*Vigna unguiculata*) and analysis of phosphate solubilization and indole acetic acid synthesis. *Braz. J. Bot.*, 39, 437–445.
- CONAGUA, 2024. Monitor de sequía en México. Servicio Meteorológico Nacional.
- Contreras-Cornejo, H., Macías-Rodríguez, L., Alfaro-Cuevas, R., & López-Bucio, J. (2014). *Trichoderma* spp. improve growth of *Arabidopsis* seedlings under salt stress through enhanced root development, osmolite production, and Na⁺ elimination through root exudates. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 27, 503-514.

- Di Lelio, I., Coppola, M., Comite, E., Molisso, D., Lorito, M., Lois Woo, S., Pennacchio, F., Rao, R., & Digilio, M. (2021). Temperature differentially influences the capacity of *Trichoderma* species in tomato against insect pests. *Frontiers in plant science*, 12, 1-15.
- Dieleman, H. (2016). Urban agriculture in México City; Balancing between ecological, economic, social and symbolic value. *Journal of Cleaner Production*, 163, S156-S163.
- Domsch, K., Anderson, W., & Yersoon, I. (1980). Compendium of soil fungi. Revision of the genus *Trichoderma*. Academic Press, London, 136, 794-810.
- Druzhinina Irina, S., Kopchinskiy, A., & Kubicek- Chistian., P. (2006). The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*, 47(2), 55–64
- Eaton, D. L., & Gilbert, S.G. (2013). Principles of toxicology. En: Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. (C.D. Klaassen, 8th Ed.). McGraw-Hill Education, pp. 13-48
- Elkhateeb, W., Elnahas, M., Daba, G., & Zohri, A. (2021). Biotechnology and Environmental applications of *Trichoderma* spp. *Reserch Journal of Phamacognosy and Phytochemistry*, 13, 101-109.
- FAO. (2014). Growing Greener Cities in Latin America and the Caribbean. Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO), Santiago, Chile.
- Fonseca, L. (1998). Estudio preliminar sobre la dinámica poblacional del biocontrolador *Trichoderma* spp. en el suelo. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C.
- Friedl, M. A., Kubicek, C.P., & Druzhinina, I. S. (2008). Carbon source dependence and photostimulation of conidiation in *Hypocrea atroviridis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 245-250.
- Gancedo, C., & Flores, C. (2004). The importance of a functional trehalose biosynthetic pathway for the life of yeasts and fungi. *FEMS Yeast Res.*, 4, 351–359.
- García-Núñez, H. Martínez-Campos, Hermosa-Prieto, M., Monte-Vázquez, E., Aguilar-Ortigoza, C., & González-Esquível, C. (2007). Caracterización morfológica y molecular de cepas nativas de *Trichoderma* y su potencial de biocontrol sobre *Phytophthora infestans*. *Rev. Mex. Fitopatol*, 35(1), 63.
- Ghorbanpoura, A., Salimi, A., Tajick-Ghanbaryb, M., Pirdashti, H., & Dehestanid, A. (2018). The effect of *Trichoderma barzianum* in mitigating low temperature stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Sci. Horticult.*, 230, 134-141.
- Gonçalves, Í., Souza, T., & Vieira, L. (2020). Toxicity testing of pesticides in zebrafish—a systematic review on chemicals and associated toxicological endpoints. *Environ Sci Pollut Res*, 27, 10185–10204.
- Gravel V., Antoun H., & Tweddell R.J. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil. Biol. Biochem.*, 39, 1968–1977.

- Guigón-López, C., & González-González, P. (2003). Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp. con actividad antagonista sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo del chile (*Capsicum annuum* L.). *Rev. Mex. Fitopatol.*, 22, 117-123.
- Guler, N., Pehlivan, N., Karaoglu, S., Guzel, S., & Bozdeveci, A. (2016). *Trichoderma atroviride* ID20G inoculation ameliorates drought stress-induced damages by improving antioxidant defence in maize seedlings. *Acta Physiol. Plant*, 38, 132.
- Harman G. E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis.*, 84, 377–393.
- Harman, G. (2004). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2, 43–56.
- Hernández-Melchor, D., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial.
- Hinsiger, P., Plassard, C., Tang, C., & Jaillard, B. (2003). Origins of root-mediated pH changes in rhizosphere and their responses to environmental constraints: a review. *Plant Soil*, 248, 43-59.
- Iturriaga, G., Suárez, R., & Nova-Franco, B. (2009). Trehalose metabolism: from osmoprotection to signaling. *Int. J. Mol. Sci.*, 10, 3793-3810.
- Jaklitsch, W. M., & Voglmayr, H. (2015). Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. *Studies in Mycology*, 80, 1-87.
- Kartal S. N., Munir E., Kakitani T., & Imamura Y. (2004). Bioremediation of CCA-treated wood by brown-rot fungi *Fomitopsis palustris*, *Caniophora puteana* and *Laetiporus sulphureus*. *J. Wood Sci.*, 50, 182–188.
- Karthikeyan, B. C., Jaleel, A., Lakshmanan, G. A., & Deiveekasundaram, M. (2008). Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 62(1), 143-45.
- Kim, K., Heo, Y. M., Jang, S., Lee, H., Kwon, S. L., Park, M. S., Lim, Y. W., & Kim, J. J. (2020). Diversity of *Trichoderma* spp. in marine environments and their biological potential for sustainable industrial applications. *Sustainability*, 12, 4327
- Kullnig, C., Krupica, T., Woo, S., Mach, R., Rey, M., Benitez, T., Lorito, M., & Kubicek, C. P. (2001). Confusion abounds over identities of *Trichoderma* biocontrol isolates. *Mycological Research.*, 10(5), 769-772.
- Kumar, A., et al. (2010). Overlapping and distinct functions of two *Trichoderma virens* MAP kinases in cell-wall integrity, antagonistic properties and repression of conidiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 398, 765–70
- Kumar, A., Shukla, A., Kumar, J., & Tuteja, N. (2016). Dose-dependent response of *Trichoderma harzianum* in improving drought tolerance in rice genotypes. *Planta*, 243, 1251-1264.

- Leng, Y., Peng, G., Cao, Y., & Xia, Y. (2011). Genetically altering the expression of neutral trehalase gene affects conidiospore thermotolerance of the entomopathogenic fungus *Metarhizium acridum*. *BMC Microbiol.*, 11, 32.
- Lewis, J. A., & Papavizas, G. C. (1984). A new approach to stimulate population proliferation of *Trichoderma* species and other potential biocontrol fungi introduced into natural soils. *Phytopathology*, 74, 1240-1244.
- Liu Y, Pan X, & Li J. A. (2015). 1961-2010 record of fertilizer use, pesticide application and cereal yields: a review. *Agron Sustain Dev*, 35(1), 83-93.
- Lorito, M., & Sheridan, L. (2018). Modulation of tomato response to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and its secondary metabolite harzianic Acid. *Front. Microbiol.* 9.
- Macheleidt J., Mattern, D., Fischer, J., Netzker, T., Weber, J., Schroeckh, V., Valiante, V., & Brakhage, A. (2016). Regulation and role of fungal secondary metabolites. *Annu. Rev. Genet.*, 23, 371-392.
- Mallikharjuna, R., Siva-Raju, K., & Ravisankar, H. (2016). Cultural conditions on the production of extracellular enzymes by *Trichoderma* isolates from tobacco rhizosphere. *Braz. J. Microbiol.*, 47, 25–32.
- Manganiello, G., Sacco, A., Ercolano, M., Vinale, F., Lanzuise, S., Pascale, M., Lombardi, N., Lorito, M., & L. Woo, S. (2013). Modulation of Tomato response to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and its secondary metabolite harzianic acid. *FEMS microbiol Lett*, 347(2), 123-9.
- Mastouri, F., Björkman, T., & Harman, G. (2010). Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathol.*, 100, 1213-1221.
- Mendoza, A. (2017). Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. Affects Indole Acetic Acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Front. Plant Sci.*, 8.
- Naeimi, S., Khosravi, V., Varga, A., Vágvölgyi, C., & Kredics, L. (2020). Screening of organic substrates for solid-state fermentation, viability and bioefficacy of *Trichoderma harzianum* AS12-2, a biocontrol strain against rice sheath blight disease. *Agronomy*, 10(9), 1258.
- Nieto-Jacobo, M., Steyaert, J., Salazar-Badillo, F., ViNguyen, D., Rostas, M., Braithwaite, M., De Souza, J., Jimenez-Bremont J. Ohkura, M., & Stewart, A. (2017). Environmental Growth Conditions of *Trichoderma* spp. Affects Indole Acetic Acid Derivatives, Volatile Organic Compounds, and Plant Growth Promotion. *Front plant Sci.*, 9(8), 102
- Nuangmek, W., Aiduang, W., Kumla, J, Lum.ong, S., & Suwannarach, N. (2021). Evaluation of a newly identified endophytic fungus, *Trichoderma phayaoense* for plant growth promotion and biological control of gummy stem blight and wilt of muskmelon. *Frontiers in Microbiology*, 12, 410.
- Nykiel-Szymańska, J., Bernat, P., & Slaba, M. (2018). Potential of *Trichoderma koningii* to eliminate alachlor in the presence of copper ions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162(30), 1-9.

- Vega, O. F. L. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo integrado de plagas (Costa Rica) 62, 96-100.
- Osorio-Concepción, M., Casas-Flores, S., & Cortés-Penagos, C. (2013). Efecto de la limitación de fosfato sobre la conidiación de *Trichoderma atroviride* y mutantes ciegas a la luz. *Revista mexicana de micología*, 37, 41-50
- Poosapati, S., Durga-Ravulapalli, P., Tippirishetty, N., Kumar-Vishwanathaswamy, D., & Chunduri, S. (2014). Selection of high temperature and salinity tolerant *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Sclerotium rolfsii*. Springer Plus, 3, 641.
- Práválie, R. (2021). Exploring the multiple land degradation pathways across the planet. Earth Science Reviews., 220, 103689.
- Rawat, R., & Tewari, L. (2011). Effect of abiotic stress on phosphate solubilization by biocontrol fungus *Trichoderma* sp. Curr. Microbiol., 62, 1521-1526.
- Redman, R., Kim, Y., Woodward, C., Greer, C., Espino, L., Doty, S., & Rodriguez, R. (2011). Increased fitness of rice plants to abiotic stress via habitat adapted symbiosis: a strategy for mitigating impacts of climate change. Plos One, 6, e14823.
- Salazar, L. Sanabria, N., Aponte, G., Alcano, M., Herrera, R., Colmenares, D., Espinoza, M., Alemán, L., & Magaña, S. (2011). Efectividad de aislamientos de *Trichoderma spp.* en el control de la fusariosis del tomate en condiciones in Vitro e in Vivo. Bioagro, 23, 185-190.
- Samolski, I., Rincón, A., Pinzón, L., Viterbo, A., & Monte, E. (2012). The *qid74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. Microbiol., 158, 129-138.
- Santoyo, G., Guzmán-Guzmán, P., Parra-Cota, F. I., Santos-Villalobos, S. D. L., Orozco-Mosqueda, M. D. C., & Glick, B. R. (2021). Plant growth stimulation by microbial consortia. Agronomy, 11, 219
- Sharma, V., Salwan, R., & Sharma, P. N. (2017). The comparative mechanistic aspects of *Trichoderma* and probiotics: scope for future research. Physiological and Molecular Plant Pathology, 100, 84-96.
- Steyaert, J. M., Weld, R. J., Mendoza-Mendoza, A., & Stewart, A. (2010). Reproduction without sex: conidiation in the filamentous fungus *Trichoderma*. Microbiology, 156, 2887-900.
- Su, D., Ding, L., & He, S. (2018). Marine-derived *Trichoderma* species as a promising source of bioactive secondary metabolites. Mini-Rev. Medicinal Chemistry, 18(20), 1702-1713.
- Suárez-Rodríguez, R., Raya-Pérez, J. C., & Iturriaga de la Fuente, G. (2015). La trehalosa: Un azúcar osmoprotector con capacidad de señalización. Cienc. Tecnol. Agropecuaria Méx., 3, 1-13.
- Tabashnik et al., B. E., A. J. Gassmann, D. W. Crowder, & Y. Carriere. (2008). Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. Nature Biotechnol., 26, 199-202.
- Torres-De la Cruz, M., Ortiz-García, C., Bautista-Muñoz, C., Ramírez-Pool, J. Ávalos-Contreras, N., Cappello-García, S., & De la Cruz-Pérez, A. (2015). Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. Rev. Mex. Biodiver., 86, 947-961.

- Trushina N., Levin M., Mukherjee P. K., & Horwitz B. A. (2013). PacC and pH-dependent transcriptome of the mycotrophic fungus *Trichoderma virens*. *BMC Genomics*, 14, 138.
- United Nations. (2020). The policy brief: The impact of COVIT 19 on food security and nutrition.
- Vargas, W. Mukherjee, P., Laughlin, D., Wiest, A., Moran-Diez, M., & Kenerley, C. (2014). Role of gliotoxin in the symbiotic and pathogenic interactions of *Trichoderma virens*. *Microbiol.*, 160, 2319–2330.
- Verma, M., Satinder, K., Brar, S., Tyagi, R., Surampalli, R., & Valéro, J. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochem. Eng. J.*, 37, 1-20.
- Villalobos-López, M., Arroyo-Becerra, A., Quintero-Jiménez, A., & Iturriaga, G. (2022). Biotechnological Advances to Improve Abiotic Stress Tolerance in Crops. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 12053.
- Vinale F., Nigro, M., Sivasithamparam, K., Flematti, G., Ghisalberti, E., Ruocco, M., & Lorito, M. (2013). Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. *FEMS Microbiol.*, 347, 123-129.
- Vuppala, G., Krishna, R., & Murthy, K. (2015). Industrial Fermentation. Research and Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology (RRJET), 4(1), 1-7.
- Zafra, G., Moreno-Montaño, A., Absalón, AE., & Cortés-Espinosa, D. (2015). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by a tolerant strain of *Trichoderma asperellum*. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22, 1034-1042.
- Zamioudis, C., & Pieterse, C. M. (2012). Modulation of host immunity by beneficial microbes. *Mol. PlantMicrobe Interact.*, 25, 139–50.
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in - chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74-90
- Zhang, J., Zhang, Y., Zhong, Y., Qu, Y., & Wang, T. (2012). Ras GTPases modulate morphogenesis, sporulation and cellulase gene expression in the cellulolytic fungus *Trichoderma reesei*. *Plos one*, 7, e48786
- Zin, N.A., & Badaluddin, N.A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65, 168–178.

El papel de la Agrobiotecnología en la Agricultura

Recibido en: 31/06/2024

Aprobado en: 02/07/2024

 10.46420/9786585756365cap11

Olga Lidia Rivera-Dávila 

Ernesto González-Gaona 

Karla Vanessa De Lira-Ramos 

Lucila Perales-Aguilar 

Roberto Sánchez-Lucio 

Catarino Perales-Segovia 

Mario Alberto Miranda Salcedo 

RESUMEN

La biotecnología ha transformado la agricultura de muy diversas formas dentro de las que destacan el cultivo de plantas in vitro, producción de plantas transgénicas, determinación de los semioquímicos involucrados en las interacciones insecto-insecto y planta-insecto, así como el empleo de extractos de plantas. Se presentan ejemplos de algunos de los usos de estas herramientas biotecnológicas con plagas y enfermedades en cultivos de Aguascalientes.

INTRODUCCIÓN

La biotecnología ha transformado la agricultura de muy diversas formas; en algunos casos se ha podido cultivar, incrementar y conservar plantas en laboratorio, que se les ha denominado como cultivo “in vitro”, en otras ocasiones se ha logrado insertar genes de interés en una planta aún y cuando procedan de especies alejadas filogenéticamente, a estas se les llama plantas transgénicas u organismos genéticamente modificados (Valera & Silos, 2010), ejemplos de estas son los maíces que tienen insertado el gen BT de *Bacillus thuringiensis* para control de lepidópteros o plantas que son resistentes a un determinado herbicida; se estima una superficie sembrada con transgénicos de 68.4 millones de ha, preferentemente con cultivos de maíz, algodón, arroz y soya (Huesing & English, 2004). Ahora en la descripción de una nueva especie se solicita al descriptor que además de la descripción morfológica se agregue un estudio molecular donde se muestre la identidad genética y la relación con otras especies cercanas.

Con la biotecnología se han podido determinar los semioquímicos involucrados en la comunicación y relaciones entre organismos, cuando son de la misma especie se les llama feromonas (sexuales, de marcaje, de agrupación, etc) y cuando son de diferente especie alomonas, sinomonas y kairomonas dependiendo de cuál sea la especie beneficiada, el emisor o el receptor (Price, 1984). El uso de metabolitos secundarios para el manejo de plagas cae dentro de la biotecnología ya que identifica los

compuestos que están actuando contra las plagas. En este escrito se mostrarán algunos ejemplos de los principales usos de la biotecnología en la agricultura.

PRODUCCIÓN DE PLANTAS *IN VITRO*

Este uso tal vez sea el más conocido de la biotecnología, ya que es común observar que se venden plantas en frascos pequeños en las ferias de las Universidades, donde se enseña una materia cercana a la biología molecular (Figura 1). Sin embargo, el empleo básico es el rescate de germoplasma nativo que está en peligro, por el saqueo de plantas en las áreas naturales, como sucede con los cactus, biznagas y nopales. Aunque existen bancos de germoplasma como el Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG- INIFAP) (Rojas, 2021) que albergan gran parte de este germoplasma ya que la forma más práctica de conservarlos en laboratorio es mediante el cultivo *in vitro*.

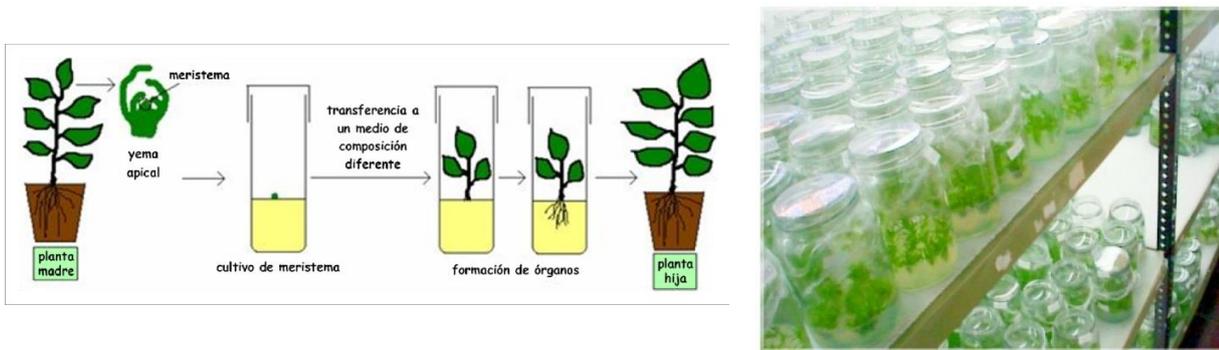


Figura 1. Esquema de la producción in vitro de una planta y aspecto de la propagación in vitro de una planta en laboratorio.

Se han realizado diversos estudios de micropropagación del guayabo con base en organogénesis directa o indirecta a partir de explantes de meristemas y hojas jóvenes. Pero no han sido exitosos ya que muestran altos índices de contaminación, y oxidación que han evitado establecer in vitro el guayabo (Portal et al., 2003).

El primer paso es seleccionar el material que se desea propagar y realizar una desinfección en campo de la planta con insecticidas y fungicidas para obtener material libre de contaminantes

Perales y colaboradores (2016) determinaron que en guayabo el mejor tratamiento para desinfección fue la combinación de Benomyl 2.0 g L⁻¹, Carbendazim 2.0 g L⁻¹ y oxicloruro de cobre 1.0 g L⁻¹. Mientras que los antioxidantes y desinfectantes fueron PVP 0.5%, cloro 5% y 3 gotas de tween 20. Para el cultivo inicial se propone MS + PVP 0.75 g L⁻¹ y carbón activado 2.0 g L⁻¹. Para multiplicación in vitro, el mejor tratamiento fue: segmento nodal uno en MS + 0.5 mg L⁻¹ BAP + 0.1 mg L⁻¹ IBA, con brotes de 1.48 cm y tres hojas por brote. Las condiciones ambientales del cuarto de incubación fueron una temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperiodo de 16 h luz y 8 h oscuridad y una intensidad lumínica de 2000 lux.

A nivel comercial se producen plantas *in vitro* uniformes para sembrar cultivos clonales con las mismas características que el material original; sin embargo, si el material provino de semillas el material que se obtiene puede disgregarse, esto pasó con el cultivo *in vitro* de la guayaba enana roja cubana en Zacatecas donde se obtuvieron plantas con las características de la enana roja cubana pero también se produjeron plantas con frutos de pulpa blanca y algunas sin semilla, aunque esto no es deseable en la propagación *in vitro* se realizó un mejoramiento genético a partir de este material, se espera que los materiales segregantes, sean igual de productivos que el material original.

TRANSFORMACIÓN GENÉTICA

Durante la transformación genética se introducen genes ajenos a la planta que pueden ser utilizados para defender a la planta del ataque de plagas, tolerar herbicidas o introducir un virus con fines de mejoramiento genético entre otros. La transformación se realiza usando preferentemente a la bacteria fitopatógena *Agrobacterium* que contienen un plásmido denominado Ti (tumor-inducing) o Ri (root-inducing), según su capacidad de inducir en el hospedante la formación de agallas en la zona del cuello o la corona o la proliferación de raíces en cabellera, respectivamente. La virulencia está determinada por diferentes regiones presentes en estos plásmidos; estas incluyen el ADN de transferencia (T-DNA) y los genes de virulencia (*vir*) (Gelvin, 2010). Las cepas virulentas de *A. tumefaciens* y *A. rhizogenes* provocan tumores en las agallas de la corona y "raíces peludas", respectivamente, en tejidos de plantas infectadas y son el resultado de la expresión de información genética, los T-DNA del plásmido Ti o Ri, transferidos de la bacteria a las células del huésped (Chilton et al., 1982; Gheysen et al., 1985; Hooykaas & Schilperoort, 1984).

El plásmido Ti (inductor de tumores) que contiene *A. tumefaciens* puede infectar 140 géneros en más de 90 familias de plantas, con mayor frecuencia en frutas de hueso, zarzas y plantas ornamentales (Md et al., 2013). Las bacterias de la agalla de la corona ingresan a la planta a través de heridas (Gelvin, 2000). Poco después de la infección, las bacterias inducen a las células de la planta a proliferar formando sobrecrecimientos nudosos (Gelvin, 2000).

La capacidad de *Agrobacterium* para integrar su propio ADN en el genoma del huésped está determinada predominantemente por el plásmido grande Ti (inductor de tumores) (Gelvin, 2000).

Actualmente De Lira y colaboradores están determinando la presencia de germoplasma resistente a los virus transmitidos por mosquitos blancos (huasteco de la vena amarilla PHYVV y mosaico dorado PepGMV) en Chile mediante la técnica de agroinfiltración con *Agrobacterium* con inserto de los virus citados esta técnica usando la biotecnología es más rápida y se puede evaluar una mayor cantidad de germoplasma de Chile que con el método tradicional con cría del insecto.

SEMIOQUÍMICOS

Cualquier químico involucrado en la interacción química entre organismos se le denomina semioquímico y de acuerdo al tipo de comunicación involucrado se les separa como feromonas si intervienen en la interacción intraespecífica y como aleloquímicos si es a nivel interespecífico (Price, 1984). Dentro de las feromonas, se les denomina de acuerdo a la función que desempeñan, las más conocidas son las sexuales; sin embargo, existen de marcaje, alarma, y de agregación entre otras. Mientras que los aleloquímicos se dividen en allomonas que son preferentemente químicos defensivos o benéficos para el emisor, kairomonas que son emitidos por un nivel trófico pero son utilizados por otro nivel trófico superior usualmente para detectar alimentos, en este caso se considera que es beneficioso para el receptor pero no para el emisor (planta-herbívoro), sinomonas que se utiliza cuando tanto el emisor como el receptor se benefician (planta-depredador o parasitoide) y apneumonas que son químicos liberados por sustancias no vivas que son benéficas para el receptor, pero perjudiciales a otro organismo en la sustancia en este término, se ejemplifica el caso de un parasitoide como *Dachasmimorpha longicaudata* que encuentra a las larvas de mosca de la fruta, por los productos de fermentación del fruto en descomposición (Price, 1984).

Para la extracción se emplean básicamente dos técnicas 1) la inmersión del tejido (planta o insecto) en un solvente por un determinado tiempo o bien extraerse mediante un soxhlet, en algunos casos el tiempo puede ser de minutos o prolongarse por horas o días, los solventes pueden ser metanol, hexano o cloruro de metileno ya sea frío o caliente (Malo-Rivera y Rojas, 2012). En el caso de picudo de la guayaba buscando una feromona de alarma se ahogaron adultos en diferentes combinaciones de agua-alcohol y después se determinaron los componentes liberados concluyéndose que la mejor combinación para obtener volátiles asociados fue 20:80 (Figura 2).

2) la captura de los volátiles en su fase gaseosa, pudiendo ser aireación dinámica que consiste en pasar un flujo de aire para arrastrar los volátiles emitidos por el organismo que se encuentra dentro de un recipiente y existe un material absorbente como Porapak Q, Super Q, Tenax y Carbón activado. Estos sistemas pueden ser cerrados (Seidelman et al., 2000) o abiertos (Tholl et al., 2006) y análisis por desadsorción térmica y purga trampa (Drijfhout et al., 2000)

Los compuestos en fase gaseosa pueden ser detectados de manera estática, ya sea mediante una jeringa que muestrea los volátiles presentes en el espacio de un frasco cerrado o mediante la microextracción en fase sólida (MEFS) donde se capturan los volátiles mediante una jeringa de gases modificada que contiene una fibra de sílica cubierta de un polímero que es introducida a través de un septo en el recipiente que contiene la muestra para capturar los volátiles contenidos en el aire (Figura 3) y después la fibra se introduce directamente en el inyector de un cromatógrafo de gases (Malo-Rivera y Rojas, 2012).

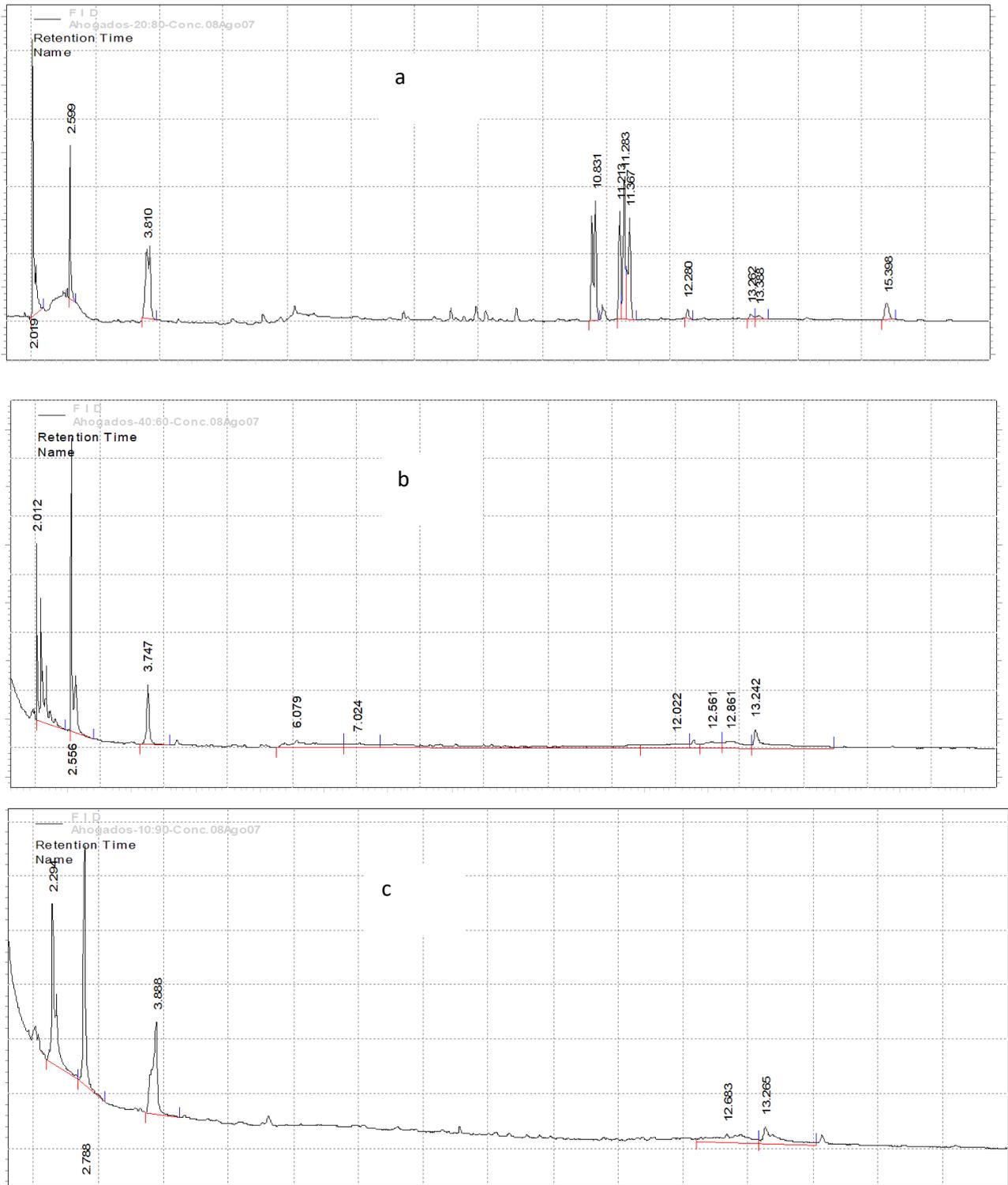


Figura 2. Detección de volátiles asociados a *Conotrachelus dimidiatus* mediante la inmersión de adultos en combinaciones de agua alcohol a) 20:80, b) 40:60, c) 10:90.

Una vez capturados los volátiles, el siguiente paso es identificar los compuestos presentes en la muestra, lo anterior se logra mediante un cromatógrafo de gases unido a un espectrómetro de masas (Figura 4). En forma posterior se buscan los compuestos en un banco de datos de productos químicos (www.pherobase.com); de los cuales se buscan cuáles se han reportado que presentan actividad en la comunicación de insectos o como volátiles emitidos por alguna familia de plantas. En forma posterior se

evalúa si presentan o no una respuesta positiva en un olfatómetro (túnel de aire impregnado con volátiles) y/o en un antenógrafo (Figura 5). Los volátiles que muestren efecto a los compuestos son evaluados en campo en forma individual o en combinación, considerando que en pequeñas dosis funcionan como atrayentes y en dosis altas tienen el efecto contrario.



Figura 3. Sistema de detección de volátiles mediante la microextracción en fase solida (MEFS).



Figura 4. Cromatógrafo de gases acoplado a masas para la determinación de volátiles asociados a guayabas y adultos de picudo de la guayaba y detalle de la inyección de la microfibras de extracción.

En el caso de picudo de la guayaba *Conotrachelus dimidiatus* se identificaron compuestos volátiles asociados a los adultos de *Conotrachelus dimidiatus* Champ., y del fruto de la guayaba (*Psidium guajava* L.) por medio de cromatografía de gases-espectrometría de masas. Los compuestos de mayor concentración en los volátiles asociados a frutos de 2.0 cm de diámetro fueron beta-cariofileno, selineno, alfa-humuleno, beta-cadineno, naftaleno, y gamma curcumeno. De los volátiles asociados a los insectos machos los más importantes fueron 10s, 11 Himachala-3 (12), 4 diene, D-limoneno, cariofileno, y alfa-copaeno. Se detectó un volátil no reportado el 2-Oxabicyclo (2,2,2) octan-6-one 1,3,3 trimetil, de estructura similar al papayanol. Este trabajo incrementa el número de compuestos volátiles asociados a los insectos adultos y al fruto hospedero los cuales pueden permitir diseñar un atrayente más específico para la captura de adultos de *C. dimidiatus* (González et al., 2019).

La hembra de *Conotrachelus dimidiatus* oviposita en frutos inmaduros de guayaba (*Psidium guajava* L.) dejando una marca de señalización para asegurar el recurso alimenticio de su descendencia y evitar la

competencia intraespecífica. Aquí se estudiaron los compuestos químicos volátiles asociados a frutos ovipositados en campo y en condiciones controladas de laboratorio con daños de alimentación y oviposición a las 6, 24 y 48 horas después de ser aislados con hexano e identificados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Los compuestos selineno, B cadineno, aromadendreno, Alfa copaeno, globulol y Gama-curcumeno presentaron una mayor concentración en los cromatogramas de frutos ovipositados por las hembras. Se detectaron también 2 hexenal y al thujopseno que son componentes reportados como repelentes de otros insectos. Se considera que el efecto individual o la combinación de algunos de los compuestos pudieran generar un efecto disuasivo de oviposición para las hembras de *C. dimidiatus* en huertos comerciales de guayaba (González et al 2021).

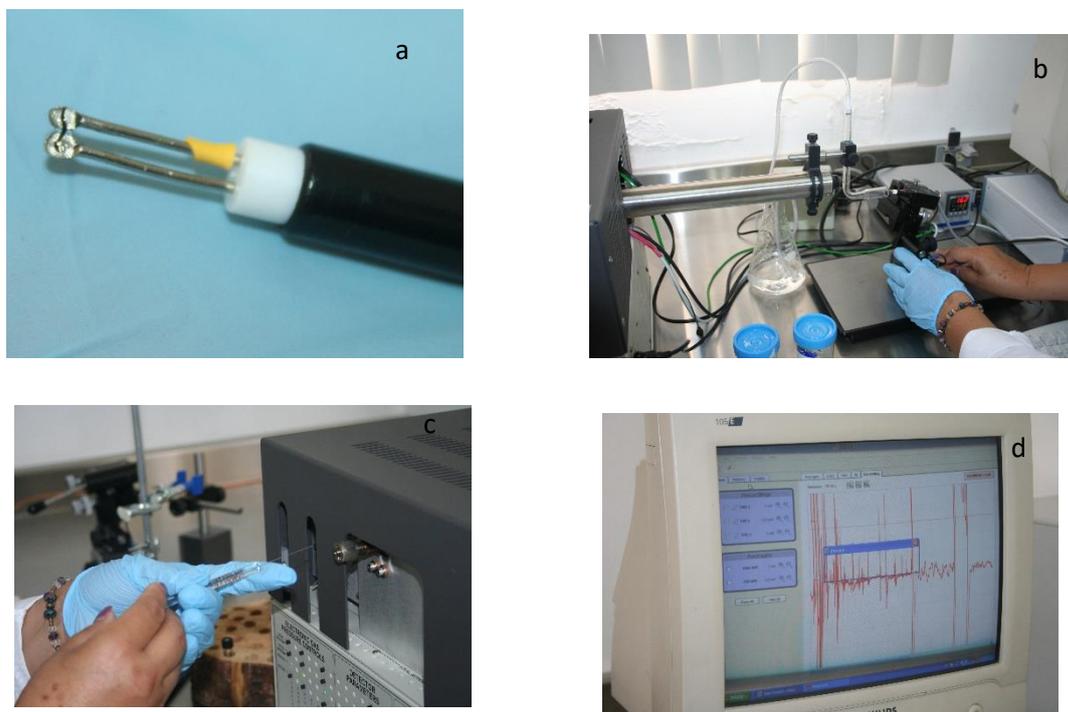


Figura 5. Aspecto del estudio de la respuesta del picudo de la guayaba a volátiles mediante antenografía. a) colocación de antenas en receptor, b) ubicación de la antena en el flujo de aire con los volátiles, c) inyección de los volátiles de prueba y d) antenograma en la pantalla de la computadora.

En otro estudio con el empleo de la biotecnología se determinó la residualidad de los principales plaguicidas de uso actual y prohibidos utilizados para controlar las plagas en frutos de guayaba en las principales áreas de producción en Calvillo, Aguascalientes; se realizaron muestreos en tres temporadas de producción (temprana, tardía y normal), se utilizó la técnica de micro extracción en fase sólida por inmersión directa (SPME-DI) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). El plaguicida detectado en mayor cantidad fue el insecticida piretroide cipermetrina en septiembre (temporada normal) con concentraciones de 1.59 mg/Kg. El fungicida encontrado en mayor cantidad fue metalaxil en concentraciones de 0.798 mg/Kg. La concentración total más alta de plaguicidas se detectó en septiembre, así como también el promedio más alto de multiresiduos cuando se detectaron 8

de los 12 plaguicidas analizados. Se detectó la presencia del insecticida organoclorado endosulfán producto que ya salió del mercado. Los plaguicidas detectados con mayor frecuencia fueron los insecticidas organofosforados: malatión y paratión metílico, detectados en las tres temporadas analizadas. El insecticida malatión fue detectado con una frecuencia del 100% en muestras de las temporadas temprana y normal.

EXTRACTOS VEGETALES

Todos los organismos vivos producen compuestos que no tienen una función conocida en los procesos básicos de crecimiento y desarrollo, a estos se le denomina metabolitos secundarios (García-Rodríguez et al., 2012), tan solo de extractos de plantas se han identificado más de 200 mil compuestos, debido a la riqueza en compuestos se les consideraba como desechos metabólicos o productos de desintoxicación (Gershenzon & Dudareva, 2007); sin embargo, debido a que las rutas para su biosíntesis son complicadas y requieren alto consumo de energía se considera que no son debido a mutaciones neutrales, sino que han surgido de un proceso de selección natural o coevolución con sus enemigos naturales y sus mutualistas (Iason et al., 2011).

La presión de selección diferencial ejercida por los enemigos naturales que se alimentan de la planta ocasiona la aparición de mutaciones que originan la aparición de un nuevo metabolito secundario tóxico que las libera de sus herbívoros, de esta manera las plantas con el nuevo metabolito pueden diversificarse produciendo nuevas especies en un ambiente libre de enemigos; sin embargo, se produce una contra defensa en los herbívoros que pueden ahora anular al metabolito produciéndose ahora una diversificación en los herbívoros sobre las nuevas especies de plantas. A este proceso se le ha denominado como “coevolución de escape y radiación” (Erlich & Raven, 1964), que explica la aparición de nuevos metabolitos tóxicos en las plantas; sin embargo, su mantenimiento y diversificación son debido a que las poblaciones de plantas son expuestas a distintas comunidades de herbívoros y patógenos (Espinosa-García, 2001) las contra defensas pueden ser cambios en la conducta del herbívoro, cambios en el blanco del metabolito y desintoxicación (respuesta bioquímica, transformación y secuestro), mientras que las contra defensas de las plantas incluyen nuevos metabolitos, saturación de enzimas y metabolitos más competitivos entre otros (García-Rodríguez et al., 2012).

Las funciones de los metabolitos secundarios en las plantas son muy diversas, entre ellas se incluyen:

Atrayentes para la dispersión tanto de polen como de semillas; los volátiles liberados por las flores (terpenos, antocianinas y carotenoides) sirven en la atracción de polinizadores, mientras que cambios en las concentraciones de carotenoides, flavonoides, taninos, alcaloides y triterpenos durante la maduración de frutos sirven para la atracción de los agentes de dispersión de los frutos tales como aves y murciélagos (Berenbaum, 2001; Gershenzon & Dudareva, 2007).

Adaptaciones a estrés abiótico; las plantas producen compuestos al ser expuestas a altitudes elevadas, frío, sequía deficiencias de nutrientes, radiación ultravioleta (Korkina, 2007), etc que mantienen los sistemas enzimáticos en un estado que permita la rápida activación al regresar las condiciones favorables o sirvan para la movilización y transporte de nitrógeno tóxico (alcaloides y péptidos como lectinas e inhibidores de proteasas) (Wink, 1998; Thompson et al., 2007).

Efecto antioxidante; durante la fotosíntesis y respiración se requiere el transporte de electrones, cuando este mecanismo no es eficiente se producen compuestos dañinos llamados especies reactivas de oxígeno, las plantas producen fenoles, alcaloides y terpenos que los transforman en otros menos dañinos (Hadacek et al., 2011).

Efectos alelopáticos; la alelopatía es el efecto perjudicial de los metabolitos secundarios de una planta sobre las otras. Los principales compuestos son terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos y lactonas sesquiterpénicas) y fenoles (ácidos fenólicos, derivados del ácido cinámico, cumarina, flavonoides, quinonas y taninos) (Anaya & Cruz-Ortega, 2001).

Protección contra microorganismos; los metabolitos secundarios evitan el ataque de hongos y bacterias, entre ellos se encuentran compuestos fenólicos, taninos, aceites esenciales y saponinas (Gershenzon & Dudareva, 2007).

Efectos contra herbívoros; los metabolitos secundarios pueden ocasionar una disuasión del ataque, afectar la tasa de crecimiento, desarrollo, supervivencia y reproducción de los insectos que se alimentan de las plantas que los contienen (Anaya & Cruz-Ortega, 2001).

Las plantas liberan el carbono asimilado en la fotosíntesis en forma de compuestos volátiles orgánicos que pueden ser emitidos por hojas, flores, frutos y raíces. A la fecha se han descrito alrededor de 1,700 compuestos volátiles en más de 90 familias (Maffei et al., 2011). Estos se clasifican en 1) terpenos o isoprenoides, 2) fenil propanoides/benzenoides y 3) derivados de ácidos grasos, aunque se reconocen otros grupos como, las índoles y los isotiocianatos (Bautista-Lozada et al., 2012). Cuando se descomponen las crucíferas se liberan isotiocianolatos que tienen efecto fungicida y nematocida, esta estrategia se evaluó en el control de guayabo con problemas radicales, llamándosele solarización y crucíferas (Valle, 1994).

La emisión de volátiles emitidos por una planta sana se denomina como emisión constitutiva, mientras que la emitida después de que la planta sufre estrés abiótico o biótico se le llama inducida pudiendo ser local o sistémica (Bautista Lozada et al., 2012). Se considera que la síntesis y emisión de volátiles presenta una ventaja para la planta y debido a que su emisión puede modificar el comportamiento, fisiología de los organismos receptores y sus interacciones con otros organismos también se les llama emisiones biogénicas.

Los factores bióticos que modifican la emisión de volátiles son: luz, temperatura, disponibilidad de agua, el ozono y el CO₂, mientras que de los biótico se encuentra la misma variabilidad de las plantas (el aguacate Hass no emite volátiles en forma perceptible mientras que la variedad *Persea americana* var

drymifolia es notoria la emisión (Bravo-Monzón & Espinosa-García, 2008), el efecto de la herbivoría que abre la ruta metabólica de los ocatdecanoides (ácido jasmonico y terpenos) (Bautista-Lozada et al., 2012); se menciona que los masticadores inducen la vía del ácido jasmónico y los chupadores la del ácido salicílico (Smith & Boyko, 2007).

La primera respuesta de la planta al ataque de un patógeno es una respuesta de hipersensibilidad y en ella intervienen alcaloides, terpenoides y los fenilpropanoides, participan activamente matando directamente al microorganismo patógeno o restringiendo su invasión al resto de la planta. Al mismo tiempo, otros metabolitos secundarios contribuyen a destruir las especies reactivas de oxígeno que son tóxicas para la misma célula vegetal. Los conjugados de fenilpropanoides con aminas se incorporan a la pared celular vegetal para aumentar su rigidez y reducir su digestibilidad por insectos y vertebrados herbívoros. Así mismo, algunos alcaloides son neurotóxicos a insectos y vertebrados herbívoros (Sepulveda et al., 2003). En la actualidad se reconocen más de 1,600 especies de plantas con propiedades insecticidas, atrayentes, repelentes, estimulantes o inhibidoras de la oviposición y la alimentación y como confusores sexuales (Silva et al., 2002).

En guayaba para el control de la enfermedad clavo de la guayaba ocasionada por *Pestalotiopsis clavispora* se emplearon extractos elaborados por maceración alcohólica de plantas nativas del agroecosistema de guayaba de Calvillo, Aguascalientes, observándose que los extractos de jaral (*Cistus* sp.), aceitilla (*Bidens odorata* Cav.), mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.), paraíso (*Melia azedarach* L.), olivo (*Olea europaea* L.), trompillo (*Solanum eleagnifolium* Cav.), lantana (*Lantana* sp.), romero (*Rosmarinus* sp.), ruda (*Ruta graveolens* L.), venadilla (*Bursera simaruba* (L.) SARG.), lengua de vaca (*Rumex crispus* L.) y eucalipto australiano (*Corymbia* (= *Eucalyptus*) *gummifera* (Gaertn.) Hill & Johnson) mostraron en laboratorio reducciones del crecimiento del hongo, superiores al 90%. En evaluación en campo los extractos de plantas de eucalipto rojo (*Eucalyptus camaldulensis*) y eucalipto australiano (*Corymbia gummifera*) mostraron porcentajes de daños similares al Malatión y menores que lo fungicidas de síntesis química evaluados (González et al., 2020).

CONCLUSIONES

Los usos de la biotecnología en la agricultura son muy diversos y ampliamente empleados tanto en la producción de plantas clonales como en la protección contra plagas y enfermedades o en la determinación de semioquímicos empleados en la interacción planta-insecto, insecto-insecto, así como en el mejoramiento genético y rescate y salvaguarda germoplasma nativo.

BIBLIOGRAFÍA

- Anaya, A. L., & Cruz-Ortega, R. (2001). La alelopatía: algunos estudios de caso y posibles aplicaciones. In: Anaya, A. L., Espinosa-García, F., Cruz-Ortega, R. (eds.) Interacciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de aplicación. UNAM pp. 33-67.
- Bautista-Lozada, A., F. Parra-Rondinel, & F. J. Espinosa-García. (2012). Efectos de la domesticación de plantas en la diversidad fitoquímica. In: J. C. Rojas y E. A. Malo (eds.). Temas selectos en ecología química de insectos. El Colegio de la frontera Sur, México. pp. 253-267.
- Berenbaum, M. R. (2001). Relaciones entre frugívoros y plantas: intermediación química en la dispersión de frutos. In: Anaya, A. L., F. J. Espinosa-García, & Cruz-Ortega, R. (eds.) Interacciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de aplicación. UNAM pp. 377-399.
- Bravo-Monzón, A. E., & Espinosa-García, F. J. (2008). Volatile emissions in *Persea americana* in response to the stem borer *Coptorus aguacatae* attack. Allelopathy J. 21: 165-174.
- Chilton, M. D., Tepfer, D. A., Petit, A., Casse-Delbart, F., & Tempe, J. (1982). *Agrobacterium rhizogenes* inserts T DNA into the genomes of host plant root cells. Nature 295:432-34.
- Drijfhout, F. P., Van Beek, T. A., Visser, J. H., & De Groot, A. (2000). On-line thermal desorption-gas chromatography of intact insects for pheromone analysis. J. Chem. Ecol. 1383-1392.
- Erlich, P. R., & Raven, P. H. (1964). Butterflies and plants: a study in Coevolution. Evolution 18: 586-608.
- Espinosa-García, F. J. (2001). La diversidad de los metabolitos secundarios y la teoría de la defensa vegetal. In: Anaya, A. L., F. J. Espinosa-García & Cruz-Ortega, R. (eds.). Interacciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de aplicación. UNAM pp. 231-249.
- García-Rodríguez, Y., A. Bravo-Monzón, Y. Martínez-Díaz, G. Torres-García, & F. J. Espinosa-García. (2012). Variación fitoquímica defensiva en ecosistemas terrestres. In: J. C. Rojas y E. A. Malo (eds.). Temas selectos en ecología química de insectos. El Colegio de la frontera Sur, México. pp. 217-252.
- Gelvin, S. B. (2000). *Agrobacterium* and plant genes involved in T-DNA transfer and integration. Annual Review of Plant Biology, 51(1), pp.223-256.
- Gelvin, S. B. (2010). *Agrobacterium* and plant genes involved in T DNA transfer and integration. Annual Rev Plant Physiol Plant Mol Biol. 51: 223-56.
- Gheysen, G., Dhaese, P., Van Monta, Gu, M., & Schell, J. (1985). DNA flux across genetic barriers: the crown gall phenomenon. In Advances in Plant Gene Research, ed. B. Hohn , E. S. Dennis, 2:1 1-47. Vienna: Springer-Verlag.
- Gershenzon, J., & Dudareva, N. (2007). The function of terpene natural products in the natural world. Nat. Chem. Biol. 3: 408-414.

- González, G. E., H. Silos, E., J. S. Padilla, R., G. Sánchez, M., J. C. Carrillo, R., F. Tafoya, K. V. De Lira R., C. Serrano, G., & C. Perales, S. (2019). Compuestos volátiles del picudo de la guayaba *Conotrachelus dimidiatus* Champion y su fruto hospedero. *Southwestern Entomologist* vol 44(3): 733-742.
- González, G. E., H. Silos, E., C. Perales, S., J. S. Padilla, R., I. G. López, M. E., & Acosta, D. (2020). Control de clavo de la guayaba con extractos de plantas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol 11(2): 365-376.
- González, G. E., H. Silos, E., J. S. Padilla, R., F. Tafoya, K. V. De Lira, R., R. Sánchez, L., L. Perales, A., M. A. Miranda, S. C., & Perales, S. (2021). Identificación de volátiles de frutos de guayaba ovipositados por el picudo de la guayaba (*Conotrachelus dimidiatus* Champion). *Southwestern Entomologist* vol 46 (4):1001-1009.
- Hadacek, F., Bachmann, G., Engelmeier, D., Chobot, V. (2011). Hormesis and chemical raison d'être for secondary plant metabolites. *Dose Response* 9: 79-116.
- Hooykaas, P. J. J., Schilperoort, R. A. (1984). The molecular genetics of crown gall tumorigenesis. *Adv. Genet.* 22:21.
- Huesing, J., & English, L. (2004). The impact of bt crops on the developing world. *AgBioForum*, 7:84-95.
- Iason, G. R., O'Reilly-Wapstra, J. M. Brewer, M. J. Summers, R. W., & Moore, B. D. (2011). Do multiple herbivores maintain chemical diversity of scots pine monoterpenes. *Phil. Trans. Roy. Soc. B* 366: 1337-1345.
- Korkina, L. G. (2007). Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants from plants defense to human health cell. *Mol Biol* 53: 15-25.
- Maffei, M., Gertsch, J., & Appendino, G. (2011). Plant volatiles: Production, function and pharmacology. *Nat. Prod. Rep.* 28:1359-1380.
- Malo-Rivera, E. A., & Rojas, J. C. (2012). Métodos de Investigación en Semioquímicos. In: J. C. Rojas y E. A. Malo (eds.). *Temas selectos en ecología química de insectos*. El Colegio de la frontera Sur, México. pp. 17-45.
- Md, S. I., Most, M. A., Jahangir, M. A., Pasquapina, C., & Firoz, A. (2013). The *Agrobacterium tumefaciens* is a Potential Tool for Anti-tumor Study. Chandi, C. R. (Ed.), *Microbiology Applications*. 135-151. Har Krishan Bhalla & Sons
- Perales, A. L., H. Silos E., L. L. Valera, M., C. Perales S., & S. Flores, B. (2016). Propagación in vitro de guayaba (*Psidium guajava* L.) a partir de segmentos nodales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* vol 7 (2):375-386. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263145278013>.
- Portal, N., Carabaloso, I., Alvarado, Y., & Leyva, M. (2003). Bacterias contaminantes en la fase de establecimiento in vitro del guayabo. *Cuba. Biotecnología vegetal*. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. 2(2):169-172.

- Price, W. P. (1984). *Insect Ecology*. A Wiley-Interscience Publication. John Wiley and Sons. New York. 607 p.
- Rojas, A. E. (2021). La conservación de Recursos Genéticos a 10 años de la creación del Centro Nacional de Recursos Genéticos del INIFAP. Libro Técnico Num 1. INIFAP-JICA-AMEXCID. 213 p.
- Seidelmann, K., Luber, K., & J. Ferenz, H. (2000). Analysis of release and role of benzyl cyanide in male desert locusts *Schistocerca gregaria*. *J. Chem. Ecol.* 26: 1897-1910.
- Sepulveda, J. G., Porta, D. H. M., & Rocha, S. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* vol 21(3):355-363.
- Silva, G., Lagunes, A., Rodríguez, T., J., & Rodríguez, D. (2002). Insecticidas vegetales: una vieja y una nueva alternativa para el manejo de plagas. *Manejo de Plagas y Agroecología* v66: 4-12.
- Smith, C. M., & Boyko, E. V. (2007). The molecular bases of plant resistance and defense responses to aphid feeding: current status. *Entomol. Exp. Appl.* 122: 1-16.
- Tholl, D., Boland, W., Hansel, A., Loreto, F., Rose, U. S. R., & Schmitzler J. P. (2006). Practical approaches to plant volatile analysis. *Plant J.* 45:540-560.
- Thompson, J. D., Gauthier, P., Amiot, J., Ehlers, B. K. Collin, C., Fossat, J., Barrios, V., Arnaud-Miramont, F., Keefover-Ring, K., & Linhart, Y. B. (2007). On going adaptations to mediterranean climate extremes in a chemically polymorphic plant. *Ecol. Mongr* 77: 421-439.
- Valera, M. L. L., & Silos E. H. (2010). Beneficios para México procedentes de la transformación de plantas. In: *Biotecnología para el semidesierto tópicos sobre el cultivo del nopal y maguey*. Silos, E. H., L. L. Valera, M., C. Perales, S., A. Nava, C., J. Méndez, G., A. Amante, O. D. Rossel, K. (eds.) ISBN 978-607-7533-47-4.
- Valle, G. P. (1994). Vigorización de árboles de guayabo afectados por nematodos (*Meloidogyne* sp.) mediante solarización e incorporación de residuos vegetales al suelo. *Rev. Inv. y Ciencia UAA, Ags., México* Vol. 13 p. 2-6.
- Wink, M. (1998). A short history of alkaloids In: Roberts, M. F. and Wink, K. M. (eds.) *Alkaloids: Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications*. Plenum Press. New York pp. 11-44.

Cromatografía: Una técnica esencial en la Biotecnología Agropecuaria

Recibido en: 27/07/2024

Aprobado en: 02/07/2024

 10.46420/9786585756365cap12

Olga Lidia Rivera-Dávila 

Ernesto González-Gaona 

Karla Vanessa De Lira-Ramos 

Lucila Perales-Aguilar 

Apolinar Velarde-Martínez 

José Mario Miranda-Ramírez 

RESUMEN

La biotecnología agropecuaria es una disciplina esencial que abarca el uso de organismos vivos y sus componentes para mejorar la producción agrícola y ganadera. Dentro de este campo, la cromatografía ha emergido como una técnica crucial para el análisis y purificación de diversos compuestos biológicos, permitiendo la identificación y cuantificación de compuestos bioactivos, esenciales para el desarrollo de soluciones innovadoras en agricultura y ganadería. La cromatografía es una técnica esencial en la biotecnología moderna, utilizada para la separación, purificación y análisis de biomoléculas, desde su invención, esta técnica ha evolucionado considerablemente, permitiendo a los científicos abordar desafíos complejos en la investigación y producción biotecnológica. Este capítulo explora en profundidad cómo se utiliza la cromatografía en la biotecnología agropecuaria, detallando sus principios, tipos, aplicaciones específicas y estudios de caso relevantes.

INTRODUCCIÓN

La cromatografía tiene un gran impacto en todos los ámbitos del análisis y, por tanto, en el progreso de la ciencia en general. La cromatografía se diferencia de otros métodos de separación en que se puede utilizar una amplia variedad de materiales, equipos y técnicas (Ismail, 2017). La cromatografía es una herramienta indispensable en la biotecnología agropecuaria, proporcionando métodos precisos y fiables para el análisis y purificación de una amplia variedad de compuestos biológicos. Cualquier método bioanalítico incluye varios pasos, siendo todos ellos importantes para lograr resultados confiables. El primer paso es tomar alícuotas de muestras para el análisis, seguido del procedimiento de extracción y limpieza de la muestra, análisis cromatográfico y detección (Nováková & Vlčková, 2009). Los principios generales de extracción se describen primero como base para comprender la cromatografía.

Principios de la cromatografía

Cromatografía es un término general aplicado a una amplia variedad de técnicas de separación basadas en la distribución (partición) de una muestra (soluto) entre una fase móvil y una fase fija o estacionaria. Puede verse como una serie de equilibrios entre la fase móvil y estacionaria. La interacción relativa de un soluto con estas dos fases se describe mediante el coeficiente de partición (K) o distribución (D) (relación entre la concentración de soluto en la fase estacionaria y la concentración de soluto en la fase móvil). La fase móvil puede ser gaseosa, líquida o un fluido supercrítico. La fase estacionaria puede ser un líquido o sólido (Ismail, 2017). La cromatografía, en el ámbito más general, se clasifica según la fase móvil utilizada, cuando la fase móvil es un gas se le nombra cromatografía de gases, cuando la fase móvil es un líquido se le conoce como cromatografía de líquidos y también encontramos a la cromatografía de fluidos supercríticos. El campo de la cromatografía también se puede subdividir según las diversas técnicas aplicadas o según los principios fisicoquímicos implicados en la separación (Figura 1).

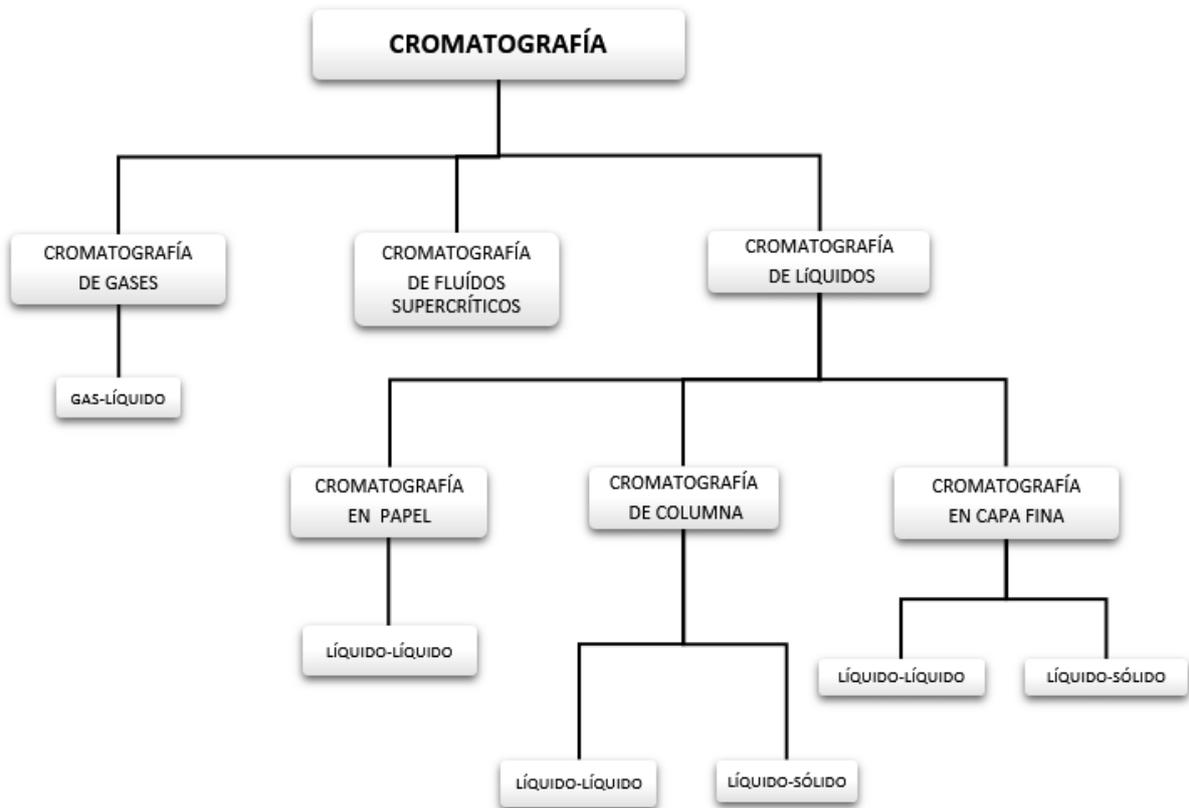


Figura 1. Subdivisiones de la cromatografía, según la técnica aplicada. Fuente: Ismail (2017).

Separación

Varios principios fisicoquímicos están involucrados en los mecanismos cromatográficos empleados para separar los diversos compuestos de interés, independientemente de las técnicas específicas aplicadas. Hay que destacar que en una separación puede intervenir más de un mecanismo. Cabe resaltar que, entre la fase móvil, la muestra (soluta) y la fase estacionaria debe de originarse una reacción de interacción y no una reacción química (cambio molecular). Entre los tres componentes del sistema cromatográfico no debe ocurrir una reacción química, por lo que cada uno de sus componentes deberá mantener su identidad y propiedades químicas.

Principios fisicoquímicos de la separación

Adsorción (líquido-sólido)

En este tipo de interacción, la fase estacionaria, también llamado adsorbente, se elige para permitir la interacción diferencial con los componentes de la muestra a resolver. La fase estacionaria es un sólido finamente dividido para maximizar el área superficial. Las principales fuerzas intermoleculares responsables de la adsorción cromatográfica incluyen: fuerzas de van der Waals, fuerzas electrostáticas, interacciones hidrofóbicas y enlaces por puentes de hidrógeno (Snyder & Dolan, 2023). La adsorción es un proceso dependiente de la concentración y el coeficiente de adsorción no es una constante.

La cromatografía de adsorción clásica utiliza principalmente sílice, alúmina o carbón vegetal (no polar). Tanto la sílice como la alúmina son adsorbentes polares, poseen grupos hidroxilo en la superficie. El orden de elución de los compuestos de estas fases estacionarias adsorbentes a menudo puede predecirse basándose en sus polaridades relativas. Los compuestos con los grupos funcionales más polares se retienen con mayor fuerza en los adsorbentes polares y, por lo tanto, eluyen en último lugar, o sea, se mantienen por más tiempo en la fase estacionaria. Primero se eluyen los solutos no polares (con menos afinidad con la fase estacionaria) Por lo tanto, para lograr la separación del compuesto de interés, se deberá utilizar una fase móvil con poca afinidad con la fase estacionaria (Dongare et al., 2023).

La fase estacionaria líquida también puede estar unida covalentemente a un soporte mediante una reacción química. Estas fases unidas se han vuelto muy populares para el uso de HPLC y ahora está disponible una amplia variedad de fases estacionarias polares y no polares. Se utiliza ampliamente la HPLC de fase inversa, con una fase estacionaria unida no polar (sílice unida con grupos C8 o C18) y un disolvente polar (agua-acetonitrilo) (Gupta & Biswas, 2023).

La cromatografía de adsorción se puede utilizar para separar compuestos aromáticos o alifáticos no polares, basándose principalmente en el tipo y número de grupos funcionales presentes. Los pigmentos carotenoides y clorofila lábiles y liposolubles de las plantas se han estudiado ampliamente mediante cromatografía en columna de adsorción.

Partición (líquido-líquido)

En este tipo de interacción, la fase estacionaria es un líquido inmóvil, mientras que la fase móvil es un segundo líquido, un disolvente inmiscible que fluye a través de la fase inmóvil, proporcionando así un contacto íntimo entre las dos fases. Los solutos se dividen entre las dos fases líquidas según sus coeficientes de partición. En la cromatografía de partición, dependiendo de las características de los compuestos a separar, se puede variar la naturaleza de las dos fases líquidas, generalmente mediante combinación de disolventes o ajuste del pH de los tampones. A menudo, el más polar de los dos líquidos se mantiene estacionario sobre un soporte inerte y el disolvente menos polar se utiliza para eluir los componentes de la muestra, pero puede utilizarse de la forma inversa (utilizando una fase estacionaria no polar y una fase móvil polar) (Dayani et al., 2024).

La cromatografía de partición líquido-líquido ha sido de gran valor para la química de los carbohidratos. La cromatografía líquida en columna sobre celulosa finamente dividida se ha utilizado ampliamente en la cromatografía preparativa de azúcares y sus derivados (Bharani et al., 2024). De la misma forma, la fase estacionaria puede ser un líquido sobre una matriz sólida. El soporte sólido debe ser inerte o lo más inerte posible y tener una gran superficie de contacto para maximizar la cantidad de líquido retenido y tiene que ser capaz de retener una fina película de agua, que sirve como fase estacionaria. Algunos ejemplos de soportes sólidos que se han utilizado son sílice, almidón, celulosa en polvo y perlas de vidrio (Martins et al., 2024).

La Tabla 1 resume algunos de los procedimientos o métodos cromatográficos que se han desarrollado en base a diferentes combinaciones de fases móvil-estacionaria. Dado que la naturaleza de las interacciones entre las moléculas del soluto y las fases móvil o estacionaria difiere, estos métodos tienen la capacidad de separar diferentes tipos de moléculas.

Tabla 1. Características de los diferentes métodos cromatográficos. Fuente: Adaptado de Heftmann (2004).

Método	Fase móvil	Fase estacionaria	Características de separación
Cromatografía Gas-Líquido	Gas	Líquido	Tamaño molecular/Polaridad
Cromatografía Gas-Sólido	Gas	Sólido	Tamaño molecular/Polaridad
Cromatografía de Fluidos Supercríticos	Fluido Supercrítico	Sólido	Tamaño molecular/Polaridad
Cromatografía Líquida Fase Reversa	Líquido Polar	Sólido o líquido no polar	Tamaño molecular/Polaridad
Cromatografía Líquida Fase Normal	Líquido menos Polar	Sólido o líquido polar	Tamaño molecular/Polaridad
Cromatografía de Intercambio Iónico	Sólido o Líquido Iónico	Sólido Iónico	Carga molecular
Cromatografía de Exclusión	Líquido	Sólido	Tamaño molecular
Cromatografía de Interacción Hidrofóbica	Líquido Polar	Sólido o líquido no polar	Tamaño molecular/Polaridad
Cromatografía de Afinidad	Agua	Sitios de unión	Estructura específica

Extracción

En su forma más simple, la extracción se refiere a la transferencia de un soluto de una fase líquida o sólida a otra para separarla de ésta (Jisha et al., 2023). La extracción en innumerables formas es parte integral de la biotecnología, ya sea que se utilice para la limpieza preliminar de la muestra, la concentración del componente de interés o como medio del análisis real. Existen varios métodos de extracción, la extracción con solventes (líquido-líquido), que pueden clasificarse como procesos discontinuos, continuos o contracorriente, la extracción acelerada con solventes y la extracción en fase sólida.

Métodos de extracción

La extracción de los analitos de la matriz es uno de los pasos principales en la preparación de la muestra. Actualmente existen numerosas técnicas de extracción basadas en diferentes principios fisicoquímicos. Los compuestos a extraer y la cantidad a la que se van a extraer depende de la técnica utilizada. Lo más importante es tener la información que te permita elegir la técnica de extracción a utilizar. También es importante conocer la matriz que se analizará. Por ejemplo, si se quiere trabajar con compuestos altamente volátiles, las técnicas de destilación o de espacio de cabeza (HS) son las más adecuadas. Para utilizar los métodos de extracción SPE (Extracción en fase sólida) y ELL (extracción líquido-líquido), SPME (microextracción en fase sólida) y SBSE (extracción con barra agitadora) se debe conocer la solubilidad de los compuestos a analizar, su polaridad e información sobre la absorción de los analitos (Costa-Freitas et al., 2012).

Extracción líquido-líquido

Extracción por lotes

En la extracción por lotes, el soluto se extrae de un disolvente agitándolo con un segundo disolvente inmisible. Después de agitar, se dejan separar las fases y se retira la capa que contiene el componente deseado. El soluto se divide o distribuye entre las dos fases (coeficiente de partición, K):

$$K = \frac{\text{Concentración del soluto en la fase 1}}{\text{Concentración del soluto en la fase 2}}$$

En la extracción por lotes, a menudo es difícil obtener una separación completa por lo que, se recomienda repetir el proceso de extracción varias veces o realizar un proceso de extracción en serie, para extraer la mayor cantidad de soluto posible (Ismail, 2017).

Extracción continua

En este tipo de extracción el disolvente se recicla de modo que el sólido se extrae repetidamente con un disolvente nuevo. La extracción continua requiere aparatos especiales, pero es más eficiente que la separación por lotes. Se han diseñado equipos para la extracción continua de sustancias de líquidos y/o sólidos, y se utilizan diferentes extractores para disolventes más pesados o más ligeros que el agua. Un ejemplo de extracción continua es el uso de un extractor Soxhlet para extraer grasa de sólidos utilizando disolventes orgánicos (Kanu, 2021).

Extracción en Fase Sólida

La extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés) es una técnica que implica eliminar analitos o eliminar interferencias de una matriz compleja. Se puede aplicar para aislar compuestos volátiles de matrices acuosas. Actualmente es muy utilizado en el análisis de compuestos volátiles (Li et al., 2006). La selectividad de la extracción y, por tanto, la separación del analito de interés del resto de componentes de la muestra, depende de la naturaleza de la muestra, el disolvente y el tipo de adsorbente utilizado (Castro-Mejías et al., 2008; Li et al., 2017). La SPE es una herramienta versátil y eficaz que mejora la precisión y la eficiencia en el análisis de muestras complejas, permitiendo una mejor detección y cuantificación de los analitos de interés.

La SPE se basa en la retención selectiva de analitos en un material adsorbente (fase estacionaria), y su posterior elución con un disolvente que presenta mayor afinidad por los analitos que por el adsorbente. Este proceso permite la separación, purificación y concentración de analitos específicos de una matriz compleja (Andrade-Eiroa et al., 2016). En la Figura 2 se observan los mecanismos de separación de una mezcla de solutos por SPE.

Los principios fundamentales de la SPE son los siguientes:

Selección del sorbente (adsorbente)

La elección del sorbente es crucial y se basa en la naturaleza química de los analitos y la matriz de la muestra. Los tipos comunes de sorbentes incluyen:

- Sílica modificada: Modificada con grupos químicos (C18, C8, CN, NH₂, etc) para interactuar con analitos específicos.
- Polímeros orgánicos: como el **poliestireno-divinilbenceno (PS-DVB)**, la **poliacrilamida**, entre otros que ofrecen alta capacidad y selectividad.
- Carbones activados: Eficientes para la retención de compuestos no polares y semipolares.

Condicionamiento del Sorbente

Antes de aplicar la muestra, el sorbente debe ser acondicionado. Este paso incluye:

- **Hidratación:** En el caso de sorbentes basados en sílica.
- **Activación:** Utilizando solventes para preparar la superficie del sorbente y mejorar la interacción con los analitos.

Aplicación de la Muestra

La muestra líquida se pasa a través del sorbente, donde los analitos de interés son retenidos debido a las interacciones específicas con el sorbente, mientras que el resto de la matriz fluye a través sin retenerse.

Lavado

El lavado se realiza para eliminar los compuestos no deseados que están débilmente retenidos en el sorbente. Esto se hace utilizando un solvente que no desorba los analitos de interés pero que elimine las impurezas.

Elución de los Analitos

Los analitos de interés se desorben del sorbente utilizando un solvente que tiene una alta afinidad por ellos. Este paso concentra los analitos y los separa de la matriz original, permitiendo su análisis posterior.

Parámetros que Afectan la SPE

- **pH de la muestra:** Puede afectar la ionización de los analitos y, por lo tanto, su interacción con el sorbente.
- **Fuerza iónica:** La presencia de sales puede influir en las interacciones iónicas entre los analitos y el sorbente.
- **Volumen de muestra:** Afecta la capacidad de retención del sorbente.
- **Velocidad de flujo:** Debe ser controlada para asegurar una interacción adecuada entre los analitos y el sorbente.

Ventajas de la SPE

- **Selectividad:** La capacidad de seleccionar diferentes sorbentes y condiciones permite una alta selectividad para los analitos de interés.

- **Concentración:** La SPE puede concentrar los analitos, mejorando la sensibilidad de las técnicas de detección posteriores.
- **Limpieza:** Elimina interferencias y compuestos no deseados de la matriz de la muestra, mejorando la calidad de los resultados analíticos.
- **Automatización:** La SPE es compatible con sistemas automatizados, lo que mejora la reproducibilidad y la eficiencia del proceso.

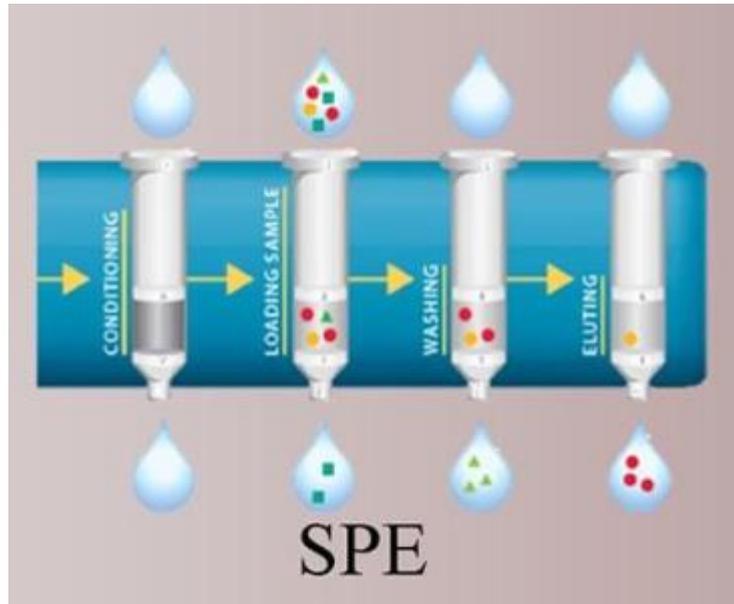


Figura 2. Procedimiento de separación de una mezcla de solutos por cromatografía en fase sólida (SPE). Fuente: Andrade-Eiroa et al. (2016).

Aplicaciones Comunes

La extracción SPE es esencial en el análisis farmacéutico, para la purificación y concentración de fármacos en muestras biológicas, en el análisis ambiental, para la detección de contaminantes en agua, suelo y aire, en el bioanálisis, en donde se utiliza para la preparación de muestras para el análisis de biomoléculas como proteínas, péptidos y ácidos nucleicos y en la detección de residuos de pesticidas, contaminantes y aditivos en alimentos y bebidas en la industria alimentaria.

Estudio de caso:

Las aminas biogénicas (BA) son compuestos generados por la descarboxilación de sus aminoácidos precursores. Su ingesta, incluso en bajas concentraciones, puede provocar varios tipos de problemas de salud en personas sensibles, éstas pueden formarse fácilmente en productos lácteos fermentados, por lo tanto su determinación cuantitativa es muy relevante. Se detectaron y cuantificaron cuatro aminas biogénicas en diferentes productos lácteos (leche, yogur y kéfir). Las aminas se extrajeron

selectivamente mediante extracción en fase sólida, posteriormente se derivatizaron con carbamato de 6-aminoquinolil- *N*- hidroxisuccinimidilo y se determinaron adicionalmente mediante cromatografía líquida de alta resolución con detección de fluorescencia. No se detectaron BA en la mayoría de las muestras de leche, pero se encontraron en niveles altos en muestras de yogur y kéfir, alcanzando valores de hasta 79 mg/kg de BA totales en muestras de kéfir (Moniente et al., 2023).

MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

La Microextracción en Fase Sólida (SPME, por sus siglas en inglés) es una técnica de preparación de muestras que combina extracción y concentración en un solo paso, sin la necesidad de solventes. SPME es ampliamente utilizada en la química analítica, especialmente para el análisis de compuestos volátiles y semi-volátiles en matrices complejas como alimentos, bebidas, aguas y matrices biológicas (Pati et al., 2021). La instrumentación bastante simple de SPME y la posibilidad de automatización total contribuyeron al desarrollo de nuevos adsorbentes y al número cada vez mayor de analitos separados y matrices complejas analizadas, incluidos suelos y sedimentos. Las aplicaciones de SPME ocupan un lugar destacado en la química analítica moderna (Moein et al., 2014; Zhang et al., 2016; Yao et al., 2022). Cabe destacar que, a diferencia de la extracción líquida y la SPE convencional, que implican la extracción cuantitativa de analitos y son métodos de separación "exhaustivos", la SPME se basa en una partición en equilibrio de un analito entre la fase adsorbente y la matriz de la muestra. La fibra, que es sílice modificada, puede sumergirse directamente en la muestra (DI, por sus siglas en inglés) o colocarse en el espacio de cabeza de la muestra (HS, por sus siglas en inglés). Los principios de la SPME son los siguientes:

EQUILIBRIO DE PARTICIÓN

La SPME se basa en el principio del equilibrio de partición entre la fase sólida (fibra recubierta de un sorbente) y la fase líquida o gaseosa de la muestra. Los analitos se distribuyen entre estas fases hasta alcanzar un equilibrio.

Selección del sorbente

La elección del sorbente es crucial y depende de la naturaleza de los analitos y la matriz de la muestra. Los sorbentes comunes incluyen:

- Polidimetilsiloxano (PDMS): Utilizado para compuestos no polares y semi-volátiles.
- Divinilbenceno (DVB): Eficaz para compuestos polares y no polares.
- Carboxeno (CAR): Adecuado para compuestos volátiles y gases.
- PDMS/DVB y CAR/PDMS: Sorbentes combinados para extraer una amplia gama de analitos.

Método de extracción

La fibra recubierta se expone a la muestra (líquida o gaseosa). Los analitos se adsorben o absorben en el recubrimiento de la fibra. La extracción puede ser:

- Directa: La fibra se sumerge directamente en la muestra líquida.
- Headspace: La fibra se coloca en la fase de vapor (headspace) sobre la muestra líquida o sólida, útil para compuestos volátiles.

Desorción

Después de la extracción, la fibra se transfiere a un instrumento de análisis, típicamente un cromatógrafo de gases (GC) o un cromatógrafo de líquidos (HPLC). La desorción térmica o por solvente libera los analitos de la fibra para su detección y cuantificación. En la figura 3 se muestra el procedimiento de extracción por inmersión directa en un líquido y la desorción del analito en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases.

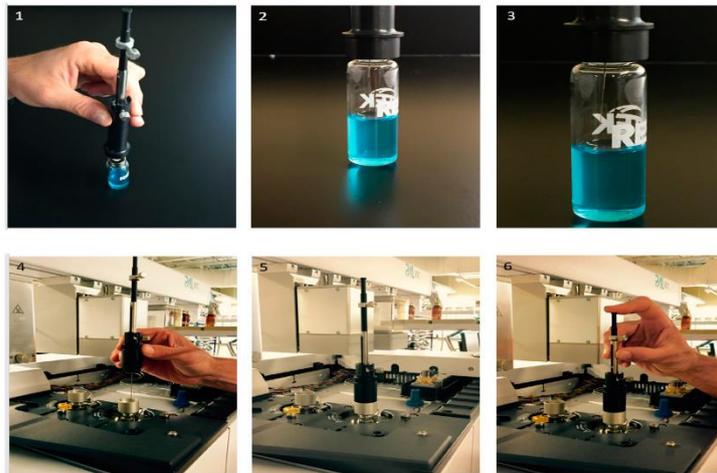


Figura 3. Procedimiento de adsorción (extracción) y desorción de una fibra SPME para análisis de cromatografía de gases (GC). Extracción manual de SPME (1–3) e inyección (4–6). Fuente: Herrington et al. (2020).

Parámetros que afectan la SPME

- Temperatura: Afecta la velocidad de difusión y la volatilidad de los analitos.
- Tiempo de extracción: Influye en el equilibrio de partición; tiempos más largos pueden aumentar la cantidad de analito extraído.
- Agitación: Mejora la transferencia de masa de los analitos hacia la fibra.
- Fuerza iónica y pH: Pueden influir en la ionización y solubilidad de los analitos.

Ventajas de la SPME

- Sin uso de solventes: Más ecológico y reduce costos.
- Simplicidad: Combina extracción y concentración en un solo paso.
- Sensibilidad: Mejora la detección de analitos en bajas concentraciones.
- Portabilidad: Las fibras SPME son fáciles de manejar y transportar.

Aplicaciones Comunes

- Análisis ambiental: Monitoreo de contaminantes en aire, agua y suelo.
- Industria alimentaria: Detección de sabores, aromas y contaminantes en alimentos y bebidas.
- Forense: Análisis de drogas y compuestos volátiles en muestras biológicas.
- Farmacéutica: Determinación de compuestos activos y metabolitos en matrices biológicas.
- Ecología química: Identificación y cuantificación de compuestos volátiles orgánicos (COVs) como feromonas y aleloquímicos.

Estudio de caso

Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) involucrados en el proceso de fermentación contribuyen a la fragancia de la sidra. Se utilizó el método de microextracción en fase sólida con espacio de cabeza y la cromatografía de gases espectrometría de masas (HS-SPME GC-MS) para el análisis químico de COV de sidra. Se analizaron cuatro sidras maduras que se prepararon de manera idéntica, salvo por la cepa de levadura. Se identificaron veintisiete COVs clave, se detectaron sabores desagradables y se cuantificaron los olores en concentraciones deseables en comparación con los umbrales de percepción. Los COVs variaron considerablemente después de la fermentación con cuatro nuevas cepas de *S. cerevisiae*, lo que evidencia la importancia central de la cepa de levadura para el aroma de la sidra terminada (Bingman et al., 2020).

TIPOS DE CROMATOGRAFÍA EN BIOTECNOLOGÍA AGROPECUARIA

La cromatografía es una técnica de separación esencial en la biotecnología agropecuaria, utilizada para purificar y analizar compuestos biológicos, desde proteínas hasta metabolitos secundarios. Su capacidad para separar componentes complejos ha revolucionado la investigación y el desarrollo en la agricultura y la producción de alimentos, mejorando la calidad, la eficiencia y la sostenibilidad de los procesos agropecuarios.

En la biotecnología agropecuaria se emplean diversos tipos de cromatografía, cada uno adecuado para diferentes aplicaciones y tipos de compuestos. A continuación, se describen los principales tipos:

a) Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una forma de cromatografía líquida que se utiliza para separar los componentes individuales de interés presentes en una mezcla y/o disueltos en la solución de muestra. Se basa en el bombeo de la fase móvil a través de la columna empacada a alta presión. El principio básico involucrado en HPLC se basa en el fenómeno de la cromatografía en columna en el que la fase móvil se bombea a través de una columna empacada aplicando alta presión (Akash et al., 2020).

La HPLC permite la separación de compuestos en una mezcla mediante el uso de alta presión para forzar el paso de la fase móvil a través de una columna con fase estacionaria. Esta técnica es esencial para analizar muestras lábiles y no volátiles que no es posible analizar en cromatografía de gases. Se utiliza extensamente para la purificación de proteínas, ácidos nucleicos y metabolitos secundarios en biotecnología agropecuaria.

La HPLC es ampliamente utilizada para la separación y purificación de proteínas, péptidos, aminoácidos y otros compuestos bioactivos en plantas y animales. En el contexto agropecuario, esta técnica permite:

- **Análisis de calidad:** Determinar la pureza y composición de productos agrícolas, como aceites esenciales, flavonoides y antioxidantes.
- **Control de contaminantes:** Detectar y cuantificar residuos de pesticidas, herbicidas y otros contaminantes en productos agrícolas y alimenticios.

Principios básicos de HPLC

La HPLC funciona pasando una muestra líquida a través de una columna que contiene un material adsorbente. Diferentes componentes de la muestra se separan en función de su interacción con el material de la columna y el solvente móvil utilizado. Los detectores, como el UV-Vis o el espectrómetro de masas, identifican y cuantifican los componentes separados.

APLICACIONES DE HPLC EN PRODUCTOS AGRÍCOLAS

Aceites Esenciales

Objetivo: Identificación y cuantificación de componentes volátiles y aromáticos.

Procedimiento

Extracción: Generalmente se realiza mediante destilación por arrastre de vapor o extracción con solventes.

Preparación de la muestra: La muestra extraída se disuelve en un solvente adecuado.

Antes de realizar el análisis, las muestras de aceites esenciales deben prepararse adecuadamente:

Dilución: Los aceites esenciales suelen ser muy concentrados. Es necesario diluirlos con un solvente adecuado (como metanol o acetonitrilo) para obtener una concentración manejable.

Filtración: Filtrar la solución diluida a través de un filtro de membrana (0.45 μm) para eliminar partículas que puedan obstruir la columna HPLC.

ANÁLISIS HPLC

Elección del sistema

Columna (fase estacionaria):

- **Tipo:** Columna de fase reversa (C18) es comúnmente utilizada debido a su capacidad para separar una amplia gama de compuestos no polares y moderadamente polares presentes en los aceites esenciales.
- **Dimensiones:** Una columna típica puede tener un tamaño de partícula de 3-5 μm y dimensiones de 150-250 mm de largo por 4.6 mm de diámetro interno.

Fase móvil:

- **Composición:** Consiste en una mezcla de un disolvente polar y un semipolar miscible (ejemplo; agua: acetonitrilo) con un modificador de pH, como ácido fosfórico o trifluoroacético).
- **Gradiente:** Se suele utilizar un gradiente de elución para separar los componentes más eficientemente. Por ejemplo, comenzar con un 10% de acetonitrilo y 90% de agua, y gradualmente aumentar la proporción de acetonitrilo hasta un 90%.

Resultados: Un detector transforma los datos o señales obtenidas en cromatogramas que muestran los picos correspondientes a los diferentes componentes de los aceites esenciales, como limoneno, cineol, y linalol. El tiempo de retención (tiempo en el que eluyen los compuestos) nos indica el tipo de compuesto y la altura y ancho del pico nos indica la concentración relativa.

Detector:

- **Tipo:** Detectores de espectrofotometría UV/Vis son los más comúnmente usados. También se pueden usar detector de arreglo de diodos (DAD) y detector de masas.

- Longitud de onda: Dependiendo de los componentes específicos a analizar, la longitud de onda puede variar. Muchos componentes de aceites esenciales absorben en el rango de 200-300 nm.

Identificación y cuantificación

- Estándares: Se utilizan estándares conocidos para identificar picos en el cromatograma. Esto puede incluir compuestos específicos como linalool, eugenol, limoneno, entre otros.
- Curva de calibración: Preparar una serie de diluciones de los estándares para crear una curva de calibración que permita la cuantificación de los componentes en la muestra.
- Análisis de datos: El software del HPLC se utiliza para integrar los picos y comparar los tiempos de retención y áreas de los picos con los estándares que nos hablará del tipo de compuesto y de su concentración en la muestra.

Validación del método

- Repetibilidad: Realizar múltiples inyecciones de la misma muestra para verificar la consistencia de los resultados.
- Precisión y exactitud: Evaluar mediante la recuperación de estándares añadidos a la muestra.

Flavonoides

La detección de flavonoides por HPLC es un proceso crítico en la investigación y análisis de estos compuestos debido a sus importantes propiedades biológicas y farmacológicas. Los flavonoides son una clase de polifenoles presentes en muchas plantas y alimentos, y su análisis requiere una metodología adecuada para garantizar la precisión y reproducibilidad. A continuación, se detalla un esquema general del proceso de análisis de flavonoides por

Objetivo: Evaluar el contenido y la composición de flavonoides en frutas, vegetales y otras plantas.

DETECCIÓN DE FAVONOIDES POR HPLC

Preparación de la muestra

Extracción de flavonoides

Material vegetal: Tomar la muestra de planta, secar y pulverizar.

Solvente de extracción: Utilizar solventes como metanol, etanol, o una mezcla de metanol/agua.

Método de extracción: Maceración, sonicación o extracción Soxhlet.

- Maceración: Remojar el polvo vegetal en el solvente por varias horas/días a temperatura ambiente.

- Sonicación: Someter la muestra a ultrasonidos durante 30-60 minutos para mejorar la extracción.
- Soxhlet: Realizar una extracción continua con solvente calentado durante varias horas.

Preparación de la solución para HPLC:

- Filtrar la solución de extracción a través de un filtro de membrana (0.45 μm) para eliminar partículas.
- Diluir si es necesario con el solvente móvil utilizado en el HPLC.

ELECCIÓN DEL SISTEMA HPLC

Columna:

- Tipo: Las columnas de fase reversa (C18) son comúnmente utilizadas debido a su capacidad para separar una amplia gama de flavonoides.
- Dimensiones: Una columna típica puede tener un tamaño de partícula de 3-5 μm y dimensiones de 150-250 mm de largo por 4.6 mm de diámetro interno.

Fase móvil:

- Composición: Mezcla de agua (con un modificador de pH, como ácido fosfórico o ácido acético) y un solvente orgánico (como metanol o acetonitrilo).
- Gradiente: Se suele utilizar un gradiente de elución para separar los flavonoides de manera eficiente. Por ejemplo, comenzar con un 10% de acetonitrilo y 90% de agua, y gradualmente aumentar la proporción de acetonitrilo hasta un 70-80%.

Parámetros de detección

Detector:

- Tipo: Detector de arreglo de diodos (DAD) o espectrofotometría UV/Vis son comúnmente usados.
- Longitud de onda: Muchos flavonoides absorben en el rango de 250-370 nm, siendo 280 nm y 340 nm longitudes de onda típicas para detección.

Identificación y cuantificación:

- Estándares: Se utilizan estándares conocidos de flavonoides como quercetina, kaempferol, apigenina, etc., para identificar picos en el cromatograma.
- Curva de calibración: Preparar una serie de diluciones de los estándares para crear una curva de calibración que permita la cuantificación de los flavonoides en la muestra.
- Análisis de datos: El software del HPLC se utiliza para integrar los picos y comparar los tiempos de retención y áreas de los picos con los estándares.

Validación del método:

- Repetibilidad: Realizar múltiples inyecciones de la misma muestra para verificar la consistencia de los resultados.
- Precisión y exactitud: Evaluar mediante la recuperación de estándares añadidos a la muestra.

Ejemplo de procedimiento

Preparación de la muestra:

- Tomar 1 g de polvo de planta y extraer con 20 mL de metanol en un baño de ultrasonidos durante 30 minutos.
- Filtrar la solución resultante y diluir con metanol si es necesario.

Análisis por HPLC:

- Columna: C18, 150 x 4.6 mm, 5 µm.
- Fase móvil: Gradiente de acetonitrilo (A) y agua con 0.1% de ácido acético (B).
 - 0-5 min: 10% A, 90% B.
 - 5-25 min: 10-70% A, 90-30% B.
 - 25-30 min: 70-80% A, 30-20% B.
- Flujo: 1 mL/min.
- Detector: UV/Vis, 280 nm y 340 nm.

Interpretación de resultados

- Comparar los tiempos de retención de los picos con los estándares para identificar los flavonoides.
- Usar la curva de calibración para cuantificar los flavonoides identificados.

Este enfoque proporciona una base sólida para el análisis de flavonoides mediante HPLC, permitiendo la identificación y cuantificación precisa de estos compuestos en diversas muestras vegetales.

b) Cromatografía de Gases (CG)

La cromatografía de gases es una técnica de cromatografía en columna, en la que la fase móvil es un gas y la fase estacionaria es principalmente un líquido inmovilizado sobre un soporte sólido inerte en una columna empaquetada o de tipo capilar. La GC se utiliza para separar los componentes volátiles térmicamente estables de una mezcla. La cromatografía de gases, específicamente la cromatografía gas-líquido, implica vaporizar una muestra e inyectarla en la cabeza de la columna. Bajo un gradiente de temperatura controlado, la muestra se transporta a través de la columna mediante el flujo de una fase móvil gaseosa. Luego, los volátiles se separan en función de varias propiedades como son el punto de ebullición, el tamaño molecular y la polaridad. La fase móvil es un gas inerte, como helio o nitrógeno.

Los componentes de la muestra se volatilizan y son transportados por el gas portador a través de la columna, donde se separan según su afinidad con la fase estacionaria (Kumar et al., 2013).

Instrumentación y Metodología

La instrumentación moderna de CG está diseñada para proporcionar resultados rápidos y precisos. Combinada con técnicas de preparación de muestras avanzadas, como la extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés) y la microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés), la CG permite la detección de contaminantes en matrices complejas con una mínima interferencia. Los desarrollos en columnas capilares, detectores selectivos y software de análisis han mejorado aún más la sensibilidad y la resolución de la técnica. La GC es empleada para separar y analizar compuestos que pueden vaporizarse sin descomponerse. Es útil para el análisis de ácidos grasos, terpenos y pesticidas en productos agropecuarios. Es ideal para la separación y análisis de compuestos volátiles y semivolátiles (Šikuten et al., 2021).

APLICACIONES

Cromatografía de gases en el análisis de aromas y sabores

La cromatografía de gases (CG) se ha establecido como una herramienta indispensable en el campo del análisis de aromas y sabores, permitiendo la separación precisa y la identificación de compuestos volátiles que contribuyen a las características sensoriales de alimentos, bebidas y otros productos (Cheng et al., 2023).

Identificación de compuestos aromáticos

En la industria alimentaria y de bebidas, la CG se utiliza extensamente para identificar los compuestos que contribuyen a los aromas característicos. Por ejemplo, en el análisis del vino, la CG puede separar y detectar los ésteres, alcoholes y aldehídos que determinan el perfil aromático único de cada variedad. La evaluación del perfil de aroma de los productos alimenticios y bebidas es crucial para mantener la consistencia y la calidad. Mediante la CG, los técnicos pueden cuantificar los compuestos aromáticos en diferentes muestras y asegurar que cumplan con los estándares de sabor esperados. También se emplea para investigar la estabilidad de los aromas en diferentes condiciones de almacenamiento y procesamiento. Esto es vital para prevenir la degradación de aromas deseables y para comprender cómo los cambios en las condiciones pueden alterar el perfil sensorial de un producto (Zhou et al., 2024).

Las fermentaciones agropecuarias representan un campo vital en la producción de alimentos y bebidas, donde microorganismos transforman sustratos naturales en productos deseables. El control preciso de estos procesos es esencial para garantizar la calidad y la eficiencia. La cromatografía de gases

(CG) se ha convertido en una herramienta indispensable para el monitoreo detallado de estos procesos. Los avances en continuos en la resolución, sensibilidad y automatización de la CG, permite un monitoreo más rápido y preciso de las fermentaciones y juega un papel crucial en el monitoreo y control de fermentaciones agropecuarias, ofreciendo herramientas poderosas para optimizar procesos, mejorar la calidad del producto final, como vinos, cervezas, quesos y productos lácteos fermentados y garantizar la seguridad alimentaria en la industria agroalimentaria global. La integración con técnicas complementarias como la espectrometría de masas ofrece resultados fiables en el análisis de metabolómica y la caracterización detallada de los productos fermentados (Zhang et al., 2024).

Las fermentaciones agropecuarias involucran una variedad de procesos que producen compuestos volátiles esenciales para la calidad del producto, por lo que la CG se utiliza para:

- **Monitoreo de Metabolitos**

Durante la fermentación, los microorganismos producen una diversidad de metabolitos, incluyendo alcoholes, ácidos orgánicos, ésteres y compuestos sulfurados. La CG permite identificar y cuantificar estos metabolitos, proporcionando información crucial sobre el progreso de la fermentación y la calidad del producto.

- **Control de Contaminantes**

Las fermentaciones pueden ser susceptibles a contaminaciones que afectan el perfil aromático y la seguridad alimentaria. La CG detecta trazas de contaminantes como pesticidas, residuos de antibióticos y productos de degradación, garantizando la conformidad con las normativas alimentarias y la seguridad del consumidor.

- **Optimización de procesos**

La optimización de las condiciones de fermentación es fundamental para maximizar la producción de compuestos deseables y minimizar subproductos no deseados. La CG evalúa cómo los cambios en variables como la temperatura, pH y tiempo de fermentación afectan la composición del producto final, facilitando ajustes precisos y eficientes en el proceso.

Casos destacados de aplicación de CG

- Monitoreo de fermentaciones de vinos: Identificación de ésteres y alcoholes que contribuyen al aroma y sabor del vino.
- Producción de quesos: Cuantificación de ácidos grasos volátiles y compuestos aromáticos para mejorar la calidad sensorial.
- Fermentación de cerveza: Análisis de compuestos fenólicos y volátiles que afectan el perfil de sabor y estabilidad del producto final.

Análisis de hormonas esteroides: La GC es eficaz en la separación y análisis de hormonas esteroides como la testosterona y el estradiol, que son volátiles y termolábiles.

APLICACIONES EN EL CONTROL DE CONTAMINANTES

La cromatografía de gases desempeña un papel crucial en el control de contaminantes en productos agropecuarios, proporcionando a los productores, reguladores y consumidores la tranquilidad de que los alimentos y materias primas agropecuarias cumplen con estándares rigurosos de seguridad y calidad. La demanda global de alimentos seguros y saludables sigue creciendo, por lo que la CG es una herramienta indispensable en la vigilancia y el monitoreo de la cadena alimentaria, asegurando que los productos agropecuarios lleguen al mercado libres de contaminantes nocivos.

- **Plaguicidas y herbicidas**

Uno de los usos más críticos de la CG en productos agropecuarios es la detección y cuantificación de pesticidas y herbicidas. Estos productos químicos, diseñados para proteger cultivos y ganado de plagas y malezas, pueden acumularse en los tejidos vegetales y animales si no se aplican correctamente o si se utilizan en exceso. La CG permite identificar residuos de pesticidas por debajo de los límites máximos de residuos (LMR) establecidos por las autoridades reguladoras, asegurando que los productos sean seguros para el consumo humano (Li et al., 2020).

- **Micotoxinas**

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por ciertos hongos que pueden contaminar los cultivos, especialmente granos y forrajes. La exposición a micotoxinas puede tener efectos adversos graves en la salud humana y animal. La CG se utiliza para detectar y cuantificar estas toxinas con alta sensibilidad y precisión, asegurando que los productos agropecuarios estén libres de contaminación fúngica a niveles perjudiciales (Muriana, 2023).

Cromatografía de Intercambio Iónico

La cromatografía de intercambio iónico (CII) es una técnica de separación que se basa en las diferencias de carga de los compuestos. La CII se basa en el principio de separación de iones mediante intercambio iónico reversible entre una fase estacionaria cargada y los iones presentes en la muestra líquida. Utiliza resinas con grupos cargados que interactúan con los iones de las muestras. La CII es fundamental para separar iones y moléculas polares, siendo crucial en:

- **Nutrición vegetal:** Análisis de suelos y soluciones nutritivas para determinar la disponibilidad de nutrientes esenciales.
- **Producción de bioproductos:** Purificación de enzimas y proteínas recombinantes utilizadas en la mejora genética de cultivos.

Aplicación de la CII en la nutrición vegetal

La Cromatografía de Intercambio Iónico (CII) ha revolucionado la manera en que entendemos y optimizamos la nutrición vegetal. A través de esta técnica analítica avanzada, los científicos y agrónomos

pueden caracterizar con precisión los nutrientes esenciales en el suelo y en las soluciones de nutrientes, proporcionando así una herramienta invaluable para mejorar la salud y el rendimiento de los cultivos. Esta técnica permite la determinación cuantitativa y cualitativa de macronutrientes como nitrato (NO_3^-), fosfato (PO_4^{3-}), potasio (K^+), calcio (Ca^{2+}), magnesio (Mg^{2+}), y micronutrientes como hierro ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$), manganeso (Mn^{2+}), zinc (Zn^{2+}), entre otros (Sparks, 2003).

APLICACIONES PRÁCTICAS EN LA NUTRICIÓN VEGETAL

- Diagnóstico de deficiencias y excesos nutricionales

La CII permite a los agrónomos y científicos determinar con precisión la disponibilidad de nutrientes esenciales en el suelo y en soluciones hidropónicas. Mediante la medición directa de los iones específicos, es posible identificar deficiencias o excesos que puedan afectar el crecimiento y desarrollo de los cultivos. Por ejemplo, una baja concentración de nitrato puede indicar la necesidad de ajustar las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados. Al conocer los perfiles iónicos del suelo o de las soluciones nutritivas, los agricultores pueden ajustar las fórmulas de fertilización de manera precisa. Esto no solo mejora la eficiencia en el uso de los fertilizantes, reduciendo costos y minimizando el impacto ambiental, sino que también maximiza la absorción de nutrientes por parte de las plantas, mejorando su salud y rendimiento (Kozaki et al., 2021).

- Monitoreo continuo y mantenimiento de la salud nutricional de los cultivos

La capacidad de realizar análisis rápidos y repetitivos con CII permite un monitoreo continuo de la disponibilidad de nutrientes en diferentes etapas de crecimiento de los cultivos. Esto es crucial para ajustar las estrategias de fertilización a medida que cambian las condiciones ambientales o los requerimientos de los cultivos, asegurando así una nutrición óptima y reduciendo el riesgo de deficiencias o toxicidades nutricionales (Jones, 2005).

- CII en el análisis de oligonucleótidos

La cromatografía de intercambio iónico es ampliamente utilizada para purificar ácidos nucleicos, lo que es esencial para técnicas como la PCR y la secuenciación genética. Es una técnica analítica poderosa utilizada en la bioquímica y la biología molecular para separar, identificar y purificar compuestos químicos, incluidos ácidos nucleicos como el ADN y el ARN. Su aplicación en el análisis de ADN y ARN es crucial para diversas investigaciones y aplicaciones prácticas. La cromatografía de intercambio iónico separa moléculas basándose en sus cargas eléctricas.

- Separación de fragmentos de ADN: Diferentes fragmentos de ADN o ARN pueden tener diferentes cargas netas, permitiendo su separación eficiente mediante intercambio iónico.
- Purificación de ARN: Se utiliza para purificar ARN de alto peso molecular de contaminantes más pequeños o de otros tipos de ARN.

Cromatografía de Afinidad

La cromatografía de afinidad (CA) es una técnica de separación avanzada basada en la interacción específica entre una proteína objetivo y un ligando que se encuentra unido a una matriz sólida. En el contexto de la biotecnología agropecuaria, esta técnica es esencial debido a su alta especificidad y capacidad para purificar proteínas en grandes cantidades y con alta pureza (Rodríguez et al., 2020).

Tipos de ligandos utilizados

Existen diversos tipos de ligandos utilizados en la cromatografía de afinidad, dependiendo de la naturaleza de la proteína objetivo y de los objetivos específicos de purificación. Algunos ejemplos comunes incluyen:

- **Anticuerpos y antígenos:** Utilizados para la purificación de proteínas que tienen una interacción específica con anticuerpos, como en el caso de proteínas recombinantes utilizadas en vacunas.
- **Hapténos:** Ligandos que se unen a anticuerpos específicos, como en el caso de toxinas vegetales o componentes alergénicos en plantas modificadas genéticamente.
- **Metaliones:** Utilizados en la purificación de enzimas metalo-dependientes o proteínas que contienen sitios de unión de metales.

Aplicaciones en la Biotecnología Agropecuaria

En la producción agrícola y ganadera, la cromatografía de afinidad juega un papel crucial en varias aplicaciones:

- **Purificación de enzimas:** Muchas enzimas utilizadas en la modificación genética de cultivos o en la producción de biocombustibles deben ser purificadas en grandes cantidades y con alta especificidad. La cromatografía de afinidad permite la separación de estas enzimas con alta pureza, minimizando la contaminación con otras proteínas celulares.
- **Producción de vacunas:** La purificación de proteínas recombinantes utilizadas como antígenos en vacunas es esencial para garantizar la eficacia y seguridad de los productos finales. La cromatografía de afinidad permite la separación de estas proteínas con alta eficiencia, eliminando contaminantes que podrían afectar la respuesta inmune en los animales o humanos vacunados.
- **Mejora de cultivos:** En la ingeniería genética de plantas y cultivos, la purificación de proteínas clave involucradas en la resistencia a plagas o enfermedades es crucial. La cromatografía de afinidad facilita la obtención de estas proteínas en cantidades suficientes para la investigación y la aplicación práctica en el campo.

- Purificación de hormonas: La cromatografía de afinidad puede usarse para purificar hormonas específicas de una mezcla compleja, mejorando la exactitud de los análisis subsecuentes.
- Estudios de interacción Hormona-Receptor: Permite estudiar las interacciones entre hormonas y sus receptores, lo cual es crucial para entender los mecanismos de acción hormonal (Hirpessa et al., 2020).

CII en el desarrollo de vacunas y antígenos en Biotecnología Agropecuaria

La cromatografía de afinidad ha revolucionado el campo de la biotecnología agropecuaria al facilitar el desarrollo eficiente y preciso de vacunas y antígenos. Este método se ha convertido en una herramienta indispensable para la purificación de proteínas específicas, permitiendo a los investigadores y científicos obtener productos de alta pureza y biológicamente activos para su aplicación en la industria agrícola y ganadera.

- Desarrollo de vacunas

En el contexto de la biotecnología agropecuaria, la cromatografía de afinidad desempeña un papel crucial en la producción de vacunas recombinantes. Las vacunas recombinantes se basan en la expresión de proteínas virales o bacterianas clave en sistemas de expresión heterólogos, como bacterias o levaduras. Una vez producidas, estas proteínas necesitan ser purificadas para eliminar impurezas y otros componentes celulares que podrían ser inmunogénicos o causar efectos adversos. La cromatografía de afinidad permite la purificación rápida y eficiente de antígenos recombinantes mediante la captura selectiva de la proteína de interés utilizando ligandos específicos. Esto no solo aumenta la pureza del antígeno, sino que también asegura que la vacuna resultante sea segura y efectiva, minimizando la presencia de contaminantes que podrían inducir respuestas inmunitarias no deseadas en los animales o humanos vacunados (Razak et al., 2023).

- Producción de antígenos para diagnóstico y tratamiento

Además de las vacunas, la cromatografía de afinidad se utiliza ampliamente en la producción de antígenos para diagnóstico y tratamiento en el campo agropecuario. Los antígenos purificados se emplean en pruebas diagnósticas para detectar enfermedades específicas en animales y en la evaluación de la inmunidad en poblaciones ganaderas. La alta pureza obtenida mediante este método asegura resultados precisos y confiables en las pruebas de diagnóstico, mejorando así la salud y la productividad animal.

Cromatografía de exclusión por tamaño

La cromatografía de exclusión por tamaño (SEC, por sus siglas en inglés) ha emergido como una herramienta indispensable en la biotecnología agropecuaria, proporcionando métodos precisos para la separación y purificación de biomoléculas clave utilizadas en diversos procesos agrícolas y ganaderos.

Esta técnica se fundamenta en la capacidad de separar moléculas según su tamaño y forma, independientemente de su carga o afinidad por el soporte estacionario, lo que la convierte en una opción versátil para la industria biotecnológica. La SEC se basa en el principio de que las moléculas más grandes son excluidas de los poros internos del material de empaque, permitiendo que las moléculas más pequeñas entren en esos poros y, por lo tanto, se retarden en su movimiento a través de la columna (Kumari et al., 2023).

APLICACIONES DE LA SEC

Purificación de proteínas y enzimas

En la biotecnología agrícola y ganadera, la purificación de proteínas y enzimas es crucial para el desarrollo de productos y procesos mejorados. La SEC permite la separación eficiente de proteínas de interés a partir de complejas mezclas biológicas, como extractos celulares o fluidos corporales de animales, asegurando que los productos finales sean altamente purificados y funcionales (Wongngam et al., 2023).

Caracterización de vacunas y antígenos

En la producción de vacunas y antígenos para uso en animales, la SEC desempeña un papel esencial en la caracterización de estos productos biológicos. Permite evaluar la homogeneidad y la pureza de las formulaciones vacunales al separar las proteínas virales o bacterianas de los contaminantes potenciales, garantizando la seguridad y eficacia de los productos finales utilizados en la inmunización del ganado y otros animales (Hossienizadeh et al., 2021).

Análisis de polisacáridos y ácidos nucleicos

Los polisacáridos y ácidos nucleicos son componentes fundamentales en la biotecnología agropecuaria, ya sea como moduladores de la respuesta inmune en plantas o como vectores para la entrega de genes en la ganadería. La SEC facilita la separación y purificación de estos compuestos según su tamaño molecular, lo que permite investigaciones más precisas sobre sus propiedades bioquímicas y su interacción con otros componentes biológicos (Jiang et al., 2020).

Cromatografía en columna

La cromatografía en columna (CC) es una técnica de separación basada en la distribución diferencial de los componentes de una mezcla entre una fase móvil (eluyente) y una fase estacionaria (columna). La elección de la fase estacionaria y el eluyente es crucial para el éxito de la separación. Se utilizan columnas rellenas con materiales como sílica gel, alúmina o resinas poliméricas, que interactúan selectivamente con los compuestos basándose en sus propiedades físico-químicas. El solvente eluyente

debe ser compatible con los compuestos a separar y tener propiedades adecuadas de solubilidad y polaridad (Robards & Ryan, 2021).

Preparación de la muestra y carga de la columna

Antes de cargar la muestra en la columna, es esencial prepararla adecuadamente. Esto puede implicar la extracción de los compuestos de interés utilizando solventes orgánicos apropiados y concentrando la muestra para aumentar la eficiencia de la separación. La muestra disuelta se carga cuidadosamente en la parte superior de la columna, generalmente mediante una técnica de gravedad para evitar la perturbación de la fase estacionaria.

Proceso de elución y recolección de fracciones

Una vez que la muestra está cargada, se procede con la elución, donde el eluyente se pasa a través de la columna. Durante este proceso, los compuestos se separan según sus afinidades con la fase estacionaria y la fase móvil. Se recolectan fracciones individuales en tubos de ensayo o frascos, monitorizando la elución mediante técnicas analíticas como la cromatografía en capa fina (TLC) para determinar la composición de cada fracción.

Análisis y caracterización de los compuestos

Finalmente, las fracciones recolectadas se analizan para determinar la presencia y pureza de los compuestos de interés. Técnicas avanzadas como la espectroscopía UV-Vis, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear (RMN) se utilizan para caracterizar estructuralmente los compuestos aislados. Este proceso es crucial para identificar nuevas moléculas bioactivas con potencial farmacológico o industrial.

Aplicación de la CC en fitoquímica

La fitoquímica, el estudio de los productos químicos naturales encontrados en las plantas, ha experimentado un notable avance gracias a técnicas analíticas como la cromatografía en columna. Esta técnica, fundamental en el arsenal del fitoquímico moderno, permite la separación y purificación de compuestos bioactivos de manera eficiente y precisa. La CC ha revolucionado la fitoquímica al permitir la purificación de compuestos bioactivos a partir de plantas con fines terapéuticos y biotecnológicos. Los avances recientes en técnicas de columnas automatizadas y el desarrollo de fases estacionarias más selectivas han mejorado la eficiencia y la resolución de esta técnica, ampliando así su aplicación en la investigación fitoquímica (Cheng et al., 2023).

Estudio de caso:

Se extrajeron los principios activos de la *Nigella sativa* L., una poderosa planta medicinal y antioxidante con muchas aplicaciones terapéuticas. La extracción se realizó mediante Soxhlet y extractos madre y los principios activos se separó mediante cromatografía en columna de sílice con los eluyentes adecuados. Se determinaron las propiedades antioxidantes todas las fracciones recolectadas. A las fracciones se les realizaron pruebas fitoquímicas cualitativas para determinar las familias químicas a las que pertenecen, identificados y caracterizados por GC-MS y HPLC-DAD. El análisis fitoquímico reveló metabolitos secundarios como polifenoles, flavonoides, alcaloides, esteroides, terpenos, cumarinas, taninos y saponinas. Solo dos disolventes (hexano, acetona) de diferentes polaridades podían extraer y separar fácilmente los componentes de *Nigella sativa* L. Por lo tanto, la actividad antioxidante de *Nigella sativa* L. se atribuyó más a los flavonoides y polifenoles que a los ácidos grasos (Tiji et al., 2021).

APLICACIONES ESPECÍFICAS DE LA CROMATOGRAFÍA EN LA BIOTECNOLOGÍA AGROPECUARIA

Mejora genética de cultivos

La cromatografía juega un papel crucial en la identificación y cuantificación de metabolitos secundarios y compuestos bioactivos en plantas y en plantas transgénicas mejoradas genéticamente (Kaur et al., 2021; Ojiewo et al., 2020; Yang et al., 2021). Esto permite:

- Selección de variedades superiores: Detectar marcadores químicos asociados con rasgos deseables, como resistencia a enfermedades y mayor contenido nutricional.
- Evaluación de la seguridad alimentaria: Asegurar que los cultivos transgénicos no contienen compuestos tóxicos o alérgenos.

La cromatografía, una técnica analítica utilizada para separar y analizar compuestos químicos, tiene aplicaciones significativas en la mejora genética de cultivos. Aquí se describen algunas formas en las que esta técnica se emplea en este campo:

Análisis de metabolitos secundarios

La cromatografía, especialmente la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se utiliza para identificar y cuantificar metabolitos secundarios en las plantas. Estos compuestos, como alcaloides, flavonoides y terpenoides, pueden influir en la resistencia a plagas y enfermedades, así como en la calidad nutricional y organoléptica de los cultivos.

Selección de variedades con características deseadas

La cromatografía de gases (GC) y HPLC se emplean para analizar perfiles de metabolitos en diferentes variedades de cultivos. Esto permite a los mejoradores seleccionar aquellas variedades que presentan concentraciones óptimas de compuestos beneficiosos, contribuyendo a la creación de cultivos con mejores propiedades nutritivas, sabor y aroma.

Identificación de marcadores bioquímicos

La cromatografía puede ayudar a identificar marcadores bioquímicos asociados con rasgos agronómicos importantes, como la resistencia a enfermedades, tolerancia a estrés ambiental y eficiencia en el uso de nutrientes. Estos marcadores pueden utilizarse en programas de selección asistida por marcadores (MAS) para acelerar el desarrollo de nuevas variedades.

Desarrollo de cultivos con propiedades nutricionales mejoradas

Mediante la cromatografía, se puede evaluar la presencia y concentración de vitaminas, aminoácidos esenciales y otros nutrientes en las plantas como la composición de ácidos grasos en cultivos oleaginosos como soja, canola y girasol. Esto permite a los mejoradores genéticos trabajar en la mejora del contenido nutricional de los cultivos, abordando problemas de desnutrición y deficiencias alimentarias.

Estudio de la respuesta al estrés

La cromatografía se utiliza para estudiar los cambios en el perfil de metabolitos en respuesta a diferentes tipos de estrés, como la sequía, la salinidad y el ataque de patógenos. Estos estudios ayudan a entender los mecanismos de resistencia y a desarrollar cultivos más resilientes.

Detección de compuestos no deseados

La cromatografía puede detectar la presencia de compuestos tóxicos o alérgenos en los cultivos. Esto es crucial para garantizar la seguridad alimentaria y desarrollar variedades que no acumulen estos compuestos.

Estudio de caso

Se realizó retrocruzamiento asistido por marcadores entre variedades endogámicas de maíz dulce pobres en β -caroteno y líneas endogámicas ricas en β -caroteno para mejorar la concentración de carotenoides. Por técnicas cromatográficas (HPLC), se midió la concentración de carotenoides y se determinó que los híbridos producidos mediante el cruce de líneas mejoradas estaban a la par de los híbridos originales en cuanto al contenido de β -caroteno (Rathinavel et al., 2023).

Producción animal

En la producción animal, la cromatografía desempeña un papel crucial en la mejora de la salud animal, la seguridad alimentaria y la eficiencia de la producción. Esta técnica permite la separación, identificación y cuantificación de los componentes de mezclas complejas, facilitando el análisis de sustancias como hormonas, antibióticos, vitaminas, ácidos grasos y toxinas (Hirpessa et al., 2020; Kumar et al., 2020; Stachnjuk et al., 2021). En la producción animal, la cromatografía se utiliza para:

- **Monitoreo de la alimentación animal:** Analizar la composición de piensos y suplementos para asegurar una nutrición equilibrada.
- **Diagnóstico de enfermedades:** Detectar biomarcadores específicos en sueros y tejidos animales para un diagnóstico temprano y preciso de enfermedades.
- **Detección de residuos de antibióticos:** Uno de los usos más críticos de la cromatografía en la producción animal es la detección de residuos de antibióticos en productos cárnicos y lácteos. Los antibióticos son ampliamente utilizados en la producción animal para prevenir enfermedades y promover el crecimiento. Sin embargo, el uso indebido o excesivo puede resultar en residuos en los productos animales, lo que puede ser perjudicial para la salud humana.

Análisis de contaminantes y toxinas: Además de los residuos de antibióticos, la cromatografía se utiliza para detectar otros contaminantes y toxinas, como micotoxinas, pesticidas y metales pesados. Estos contaminantes pueden entrar en la cadena alimentaria animal a través del pienso contaminado o del medio ambiente. La HPLC y la GC, a menudo en combinación con MS, son herramientas esenciales para el análisis de estas sustancias. Por ejemplo, la cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC-MS) es extremadamente eficaz para la detección de pesticidas, mientras que la HPLC-MS es ideal para el análisis de micotoxinas.

Análisis de hormonas y metabolitos

La monitorización de hormonas y metabolitos en los animales es vital para evaluar su estado de salud y bienestar. Las hormonas, como el cortisol, pueden indicar niveles de estrés, mientras que otros metabolitos pueden reflejar el estado nutricional y metabólico. La HPLC es una técnica dominante en el análisis de hormonas debido a su capacidad para separar compuestos complejos y su compatibilidad con diversos detectores, como el detector UV y el MS. Por otro lado, la GC es útil para el análisis de metabolitos volátiles.

Diagnóstico de Enfermedades

La cromatografía se emplea en el diagnóstico de enfermedades mediante el análisis de biomarcadores específicos en muestras biológicas como sangre, orina y tejidos.

Estudios de Digestibilidad

La cromatografía se utiliza para estudiar la digestibilidad y el metabolismo de los nutrientes en los animales. Esto incluye el análisis de ácidos grasos, aminoácidos y otros componentes del alimento a lo largo del tracto digestivo.

Mejora reproductiva (detección de ciclos estrales): El análisis de hormonas reproductivas permite la detección precisa de los ciclos estrales en hembras, lo que es fundamental para la sincronización de la inseminación artificial y la mejora de las tasas de concepción.

Producción de hormonas y bioensayos

- **Producción de hormonas recombinantes:** La cromatografía se utiliza en la purificación de hormonas recombinantes utilizadas en tratamientos de fertilidad y en la producción ganadera.
- **Bioensayos de actividad hormonal:** Se emplea para desarrollar bioensayos que miden la actividad biológica de las hormonas en diferentes condiciones experimentales.

Biocombustibles y bioenergía

La cromatografía es una técnica analítica que se utiliza ampliamente en la investigación y producción de biocombustibles y bioenergía. Su uso en este campo abarca varias etapas, desde la caracterización de materias primas hasta el análisis de productos finales y subproductos (Beccaria et al., 2021; Singh et al., 2022; Vinoth-Kumar et al., 2020). A continuación, se detallan algunos de los usos específicos de la cromatografía en la generación de biocombustibles y bioenergía:

Optimización de procesos de fermentación: Monitorear la producción de etanol, biogás y otros biocombustibles a partir de biomasa agrícola.

Análisis de subproductos: Identificar y cuantificar compuestos secundarios que puedan afectar la eficiencia del biocombustible.

Caracterización de materias primas

Las materias primas para biocombustibles incluyen biomasa como algas, residuos agrícolas, y aceites vegetales. La cromatografía, especialmente la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se utilizan para:

- **Identificación y cuantificación de componentes:** Determinar la composición química de las materias primas, incluyendo lípidos, azúcares, lignina y celulosa.
- **Análisis de impurezas:** Identificar y cuantificar impurezas que podrían afectar la eficiencia de la conversión a biocombustibles.

Monitoreo del proceso de producción

Durante la producción de biocombustibles, la cromatografía es esencial para monitorear y optimizar las reacciones químicas involucradas. Esto incluye:

- **Fermentación:** Seguimiento de la fermentación de azúcares a etanol o butanol mediante HPLC para cuantificar la concentración de productos y subproductos.
- **Transesterificación:** En la producción de biodiésel a partir de aceites vegetales, la GC se utiliza para analizar los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) y asegurar la calidad del biodiésel.
- **Pirólisis y gasificación:** Análisis de los productos gaseosos y líquidos obtenidos mediante pirólisis y gasificación de biomasa utilizando GC para evaluar la eficiencia del proceso y la composición del gas de síntesis.

Control de calidad del producto final

Para asegurar que los biocombustibles cumplen con las normas y especificaciones, la cromatografía se emplea en el control de calidad:

- **Pureza del producto:** Determinación de la pureza del biodiésel, bioetanol, biobutanol, etc., mediante GC y HPLC.
- **Detección de contaminantes:** Identificación de contaminantes como glicerol, metanol, y otros subproductos que puedan afectar el rendimiento del motor y las emisiones.

Análisis de subproductos y residuos

La producción de biocombustibles genera varios subproductos y residuos que también necesitan ser analizados como:

- **Valoración de subproductos:** La cromatografía permite analizar subproductos como glicerol (en la producción de biodiésel) para su posible uso en otros procesos industriales.
- **Tratamiento de residuos:** Identificación de compuestos presentes en residuos para su tratamiento adecuado y minimización de impactos ambientales.

Ejemplos de aplicaciones en la producción de biocombustibles

- **Análisis de lípidos en algas:** La HPLC se utiliza para analizar el contenido de lípidos en algas, que son una fuente potencial de biodiésel.
- **Determinación de azúcares en biomasa lignocelulósica:** La GC y HPLC permiten cuantificar los azúcares liberados durante la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica, crucial para la producción de bioetanol.
- **Caracterización de biocombustibles avanzados:** Para biocombustibles de segunda y tercera generación, la cromatografía ayuda a caracterizar y optimizar nuevos procesos de producción.

Aplicaciones en ecología química

La ecología química estudia las interacciones químicas entre organismos y su entorno. La cromatografía es una herramienta clave para identificar y caracterizar los compuestos químicos implicados en estas interacciones (Mbaluto et al., 2020).

Identificación de semioquímicos

Los semioquímicos son sustancias químicas que median la comunicación entre organismos. Estos incluyen feromonas, aleloquímicos y kairomonas, entre otros.

- **Feromonas:** Son sustancias químicas emitidas por un individuo que afectan el comportamiento o la fisiología de otro individuo de la misma especie. Por ejemplo, las feromonas sexuales en insectos que se utilizan para el monitoreo y control de plagas.

Aplicación de GC-MS: La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) permite la identificación precisa de feromonas en mezclas complejas, facilitando el desarrollo de trampas y cebos específicos para el control de plagas.

- **Aleloquímicos:** Son compuestos químicos que influyen en organismos de diferentes especies. Estos pueden ser alelopáticos, que inhiben el crecimiento de otras plantas, o atractivos para polinizadores y otros organismos beneficiosos.

Uso de HPLC: La HPLC se utiliza para aislar y cuantificar aleloquímicos en extractos de plantas, ayudando en el desarrollo de cultivos con propiedades alelopáticas para el control de malezas.

- **Kairomonas:** Son sustancias químicas emitidas por un organismo y detectadas por un organismo de otra especie, beneficiando al receptor, pero no al emisor. Un ejemplo es el uso de kairomonas en trampas para el manejo de insectos plaga. El identificar kairomonas activas en insectos plaga, mejora las estrategias de manejo integrado de plagas. La CG es ideal para este tipo de análisis (Montagné et al., 2022).

Beneficios de la cromatografía en la Biotecnología Agropecuaria

La integración de técnicas cromatográficas en la biotecnología agropecuaria ofrece múltiples beneficios:

- Mejora en el manejo de plagas: La identificación de semioquímicos específicos permite desarrollar métodos de control de plagas más efectivos y ambientalmente amigables.
- Optimización de producción agrícola: El análisis de compuestos bioactivos en plantas contribuye a la selección de cultivos con características deseables, como resistencia a enfermedades o mayor eficiencia en el uso de nutrientes.
- Sostenibilidad ambiental: La cromatografía ayuda a detectar y monitorizar contaminantes y residuos químicos en el medio ambiente, promoviendo prácticas agrícolas más sostenibles (Bandeira et al., 2021).

Cromatografía en la detección de plaguicidas en el campo agropecuario

La cromatografía es una técnica esencial en la detección y análisis de plaguicidas en el campo agropecuario. Los plaguicidas son sustancias químicas utilizadas para proteger los cultivos de plagas, enfermedades y malezas, pero su uso indebido puede tener efectos perjudiciales en la salud humana y el medio ambiente. Por lo tanto, el monitoreo preciso y eficiente de los residuos de plaguicidas es crucial para garantizar la seguridad alimentaria y la sostenibilidad ambiental (Narendran et al., 2020).

La detección de plaguicidas mediante cromatografía implica varios pasos clave: la extracción de los plaguicidas de las muestras agropecuarias, la separación de los componentes mediante técnicas cromatográficas, y la identificación y cuantificación de los plaguicidas mediante detectores adecuados.

Extracción de plaguicidas: La extracción es el primer paso crucial y puede realizarse mediante diversos métodos como la extracción en fase sólida (SPE), la extracción líquido-líquido (LLE), y la microextracción en fase sólida (SPME). Estos métodos buscan aislar y concentrar los plaguicidas presentes en las muestras.

Separación Cromatográfica: Una vez extraídos, los plaguicidas se separan utilizando técnicas cromatográficas. La elección de la técnica depende de las propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas. La GC es preferida para plaguicidas volátiles, mientras que la HPLC es adecuada para aquellos que no son volátiles.

Detección y Cuantificación: Los plaguicidas separados se detectan y cuantifican utilizando diversos detectores. Los detectores de espectrometría de masas (MS) acoplados a GC o HPLC son altamente sensibles y específicos, permitiendo la identificación y cuantificación precisa de los plaguicidas. Otros detectores incluyen el detector de captura de electrones (ECD) y el detector de fotometría de llama (FPD) (Mandal et al., 2023).

Tipos de Cromatografía utilizada

Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC):

- Principio: Separación de compuestos basada en su interacción con una fase estacionaria y una fase móvil líquida.
- Aplicaciones: Utilizada para plaguicidas polares y no volátiles.
- Ventajas: Alta resolución, precisión y capacidad de manejar una amplia gama de compuestos.

Cromatografía de Gases (GC):

- Principio: Separación de compuestos volátiles en una fase gaseosa a través de una columna.
- Aplicaciones: Ideal para plaguicidas volátiles y semi-volátiles.
- Ventajas: Alta sensibilidad y selectividad, especialmente cuando se acopla con detectores específicos.

Métodos de Detección

Detección por Espectrometría de Masas (MS):

- Principio: Ionización de moléculas y análisis de su relación masa/carga (m/z).
- Aplicaciones: Usado conjuntamente con HPLC o GC (HPLC-MS, GC-MS) para identificar y cuantificar plaguicidas.
- Ventajas: Alta sensibilidad y especificidad, capaz de identificar compuestos en concentraciones muy bajas.

Detección por Fotometría de Llama (FID):

- Principio: Detección basada en la ionización de compuestos orgánicos en una llama de hidrógeno.
- Aplicaciones: Frecuentemente usado en GC.
- Ventajas: Alta sensibilidad para compuestos orgánicos, simple y robusto.

Detección por Captura de Electrones (ECD):

- Principio: Detecta compuestos que capturan electrones, típicamente halogenados.
- Aplicaciones: Adecuado para detectar plaguicidas organoclorados.
- Ventajas: Muy sensible para compuestos con alta afinidad electrónica.

Procedimiento general

a) Muestreo y preparación de la muestra:

- Las muestras de frutas y vegetales son recolectadas y preparadas (lavadas, peladas, cortadas) según protocolos estandarizados.
 - Se realiza una extracción de plaguicidas utilizando disolventes apropiados, seguido de una limpieza del extracto (p.ej., mediante técnicas de QuEChERS).
- b) Análisis cromatográfico:
- El extracto purificado se inyecta en el sistema cromatográfico (HPLC o GC).
 - Se procede a la separación de los compuestos de interés en la columna cromatográfica.
- c) Detección y cuantificación:
- Los compuestos separados son detectados mediante los detectores mencionados (MS, FID, ECD).
 - Los resultados son comparados con estándares conocidos para identificar y cuantificar los plaguicidas presentes en la muestra.

Ventajas y Desafíos

- Ventajas: Alta sensibilidad, especificidad y capacidad para analizar múltiples plaguicidas simultáneamente.
- Desafíos: Necesidad de equipamiento especializado y personal capacitado, costos elevados y la complejidad de la preparación de muestras.

Normativas y Regulaciones

El análisis de plaguicidas en frutas y vegetales está regulado por organismos internacionales y nacionales (COFEPRIS, EFSA, EPA, FDA). Estas entidades establecen límites máximos de residuos (LMRs) y proporcionan directrices para los métodos analíticos aceptables.

En resumen, la cromatografía y la detección de plaguicidas son esenciales para garantizar la seguridad alimentaria y proteger la salud pública. La combinación de técnicas avanzadas de separación y detección permite un análisis preciso y confiable de residuos de plaguicidas en frutas y vegetales.

CONCLUSIONES

La cromatografía es una herramienta indispensable en la biotecnología agropecuaria, proporcionando métodos precisos y fiables para el análisis y purificación de una amplia variedad de compuestos biológicos. Su aplicación en la producción de proteínas, el análisis de metabolitos secundarios, la detección de contaminantes, el mejoramiento genético y la evaluación de la composición nutricional es crucial para el avance y la sostenibilidad de la agricultura y la ganadería. Con el continuo desarrollo de nuevas tecnologías y métodos, la cromatografía seguirá siendo un pilar fundamental en la biotecnología agropecuaria, contribuyendo a la mejora de la productividad y la calidad en este sector vital.

BIBLIOGRAFÍA

- Akash, M. S. H., Rehman, K., Akash, M. S. H., & Rehman, K. (2020). High performance liquid chromatography. *Essentials of pharmaceutical analysis*, 175-184.
- Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieri, V., & Cerda, V. (2016). Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, 80, 641–654. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.015>.
- Bandeira, P. T., Fávaro, C. F., Francke, W., Bergmann, J., & Zarbin, P. H. G. (2021). Aggregation pheromones of weevils (Coleoptera: Curculionidae): advances in the identification and potential uses in semiochemical-based pest management strategies. *Journal of Chemical Ecology*, 1-19.
- Beccaria, M., Siqueira, A. L. M., Maniquet, A., Giusti, P., Piparo, M., Stefanuto, P. H., & Focant, J. F. (2021). Advanced mono-and multi-dimensional gas chromatography–mass spectrometry techniques for oxygen-containing compound characterization in biomass and biofuel samples. *Journal of Separation Science*, 44(1), 115-134.
- Bharani, K. S. V., Khatoon, R., Lalchandani, D. S., Chenkual, L., & Porwal, P. K. (2024). Determination of α -oxo-aldehydes and furfurals using HPLC-PDA-ELSD method in sugar-containing food products. *Food Chemistry Advances*, 4, 100614.
- Bingman, M. T., Stellick, C. E., Pelkey, J. P., Scott, J. M., & Cole, C. A. (2020). Monitoring cider aroma development throughout the fermentation process by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) analysis. *Beverages*, 6(2), 40.
- Castro-Mejías, R., Natera-Marín, R., Durán-Guerrero, E., & García-Barroso, C. (2008). Application of solid phase extraction techniques to analyse volatile compounds in wines and other enological products. *European Food Research and Technology*, 228(1), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0900-4>.
- Cheng, Y., Han, L., Huang, L., Tan, X., Wu, H., & Li, G. (2023). Association between flavor composition and sensory profile in thermally processed mandarin juices by multidimensional gas chromatography and multivariate statistical analysis. *Food Chemistry*, 419, 136026.
- Costa Freitas, A. M., Gomes da Silva, M. D. R., & Cabrita, M. J. (2012). Sampling techniques for the determination of volatile components in grape juice, wine and alcoholic beverages. In *Comprehensive sampling and sample preparation* (Vol. 4, pp. 27–41). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00126-5>.
- Dayani, M. T., Ambagaspiya, A. W. T. D., Atapattu, S. N., & Ariyasena, T. C. (2024). Determination of experimental solute descriptor values for safrole by liquid-liquid partitioning and gas chromatography. *Physics and Chemistry of Liquids*, 1-7.

- Dongare, M. V. S., Kohale, N. B., & Rathod, S. B. (2023). A review of chromatograph: Principal, classification, application. *Int. J. Humanit. Soc. Sci. Manag*, 3(2), 367-373.
- Gupta, M. K., & Biswas, P. K. (2023). Chromatography: Basic principle, types, and applications. In *Basic Biotechniques for Bioprocess and Bioentrepreneurship* (pp. 173-182). Academic Press.
- Heftmann, E. (2004) *Chromatography*, 6th edn. Fundamentals and applications of chromatography and related differential migration methods. Part A: fundamentals and techniques. Part B: applications. *J. Chromatog Library Ser vols 69A and 69B*. Elsevier, Amsterdam.
- Hirpessa, B. B., Ulusoy, B. H., & Hecer, C. (2020). Hormones and hormonal anabolics: residues in animal source food, potential public health impacts, and methods of analysis. *Journal of Food Quality*, 2020(1), 5065386.
- Herrington, J. S., Gómez-Ríos, G. A., Myers, C., Stidsen, G., & Bell, D. S. (2020). Hunting molecules in complex matrices with spme arrows: A review. *Separations*, 7(1), 12.
- Hossienizadeh, S. M. J., Bagheri, M., Alizadeh, M., Rahimi, M., Azimi, S. M., Kamalzade, M., ... & Ghassempour, A. (2021). Two dimensional anion exchange-size exclusion chromatography combined with mathematical modeling for downstream processing of foot and mouth disease vaccine. *Journal of Chromatography A*, 1643, 462070.
- Ismail, B. P. (2017). *Basic Principles of Chromatography*. *Food Analysis*, 185-211.
- Jiang, Q., Wang, Y., Li, H., & Chen, D. D. (2020). Combining online size exclusion chromatography and electrospray ionization mass spectrometry to characterize plant polysaccharides. *Carbohydrate polymers*, 246, 116591.
- Jisha, K. J., Athira, K. K., Priyanka, V. P., & Gardas, R. L. (2023). Liquid-liquid extraction. In *Handbook of Biomolecules* (pp. 227-239). Elsevier.
- Jones Jr, J. B. (2005). *Hydroponics: A practical guide for the soilless grower*. CRC Press.
- Kanu, A. B. (2021). Recent developments in sample preparation techniques combined with high-performance liquid chromatography: A critical review. *Journal of Chromatography A*, 1654, 462444.
- Kaur, B., Sandhu, K. S., Kamal, R., Kaur, K., Singh, J., Röder, M. S. & Muqaddasi, Q. H. (2021). Omics for the improvement of abiotic, biotic, and agronomic traits in major cereal crops: Applications, challenges, and prospects. *Plants*, 10(10), 1989.
- Kozaki, D., Sago, Y., Fujiwara, T., Mori, M., Kubono, C., Koga, T. & Tachibana, T. (2021). Ion-exclusion/cation-exchange chromatography using dual-ion-exchange groups for simultaneous determination of inorganic ionic nutrients in fertilizer solution samples for the management of hydroponic culture. *Agronomy*, 11(9), 1847.
- Kumar, A., Bhattacharyya, A., Shinde, R., Dhanshetty, M., Elliott, C. T., & Banerjee, K. (2020). Development and validation of a multiresidue method for pesticides and selected veterinary drugs

in animal feed using liquid-and gas chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1627, 461416.

- Kumar, S., Jyotirmayee, K., & Sarangi, M. (2013). Thin layer chromatography: a tool of biotechnology for isolation of bioactive compounds from medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 18(1), 126-132.
- Kumari, P., Saldanha, M., Jain, R., & Dandekar, P. (2023). Controlling monoclonal antibody aggregation during cell culture using medium additives facilitated by the monitoring of aggregation in cell culture matrix using size exclusion chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 115575.
- Li, C., Begum, A., & Xue, J. (2020). Analytical methods to analyze pesticides and herbicides. *Water Environment Research*, 92(10), 1770-1785.
- Li, K. M., Rivory, L. P., & Clarke, S. J. (2006). Solid-phase extraction (SPE) techniques for sample preparation in clinical and pharmaceutical analysis: a brief overview. *Current Pharmaceutical Analysis*, 2(2), 95-102.
- Li, Z., Yu, B., Cong, H., Yuan, H., & Peng, Q. (2017). Recent Development and Application of Solid Phase Extraction Materials. *Rev. Adv. Mater. Sci*, 48, 87–111.
- Mandal, S., Poi, R., Hazra, D. K., Ansary, I., Bhattacharyya, S., & Karmakar, R. (2023). Review of extraction and detection techniques for the analysis of pesticide residues in fruits to evaluate food safety and make legislative decisions: Challenges and anticipations. *Journal of Chromatography B*, 1215, 123587.
- Martins, L. C., Acevedo, M. S. M., Gama, M. R., & Rocha, F. R. (2024). Salt-assisted liquid-liquid extraction and on-column concentration for chromatographic determination of phenolic compounds in beer. *Advances in Sample Preparation*, 100107.
- Mbaluto, C. M., Ayelo, P. M., Duffy, A. G., Erdei, A. L., Tallon, A. K., Xia, S., & Becher, P. G. (2020). Insect chemical ecology: chemically mediated interactions and novel applications in agriculture. *Arthropod-plant interactions*, 14, 671-684.
- Moein, M. M., Said, R., Bassyouni, F., and AbdelRehim, M., (2014), Solid Phase Microextraction and Related Techniques for Drugs in Biological Samples. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 921350. <http://dx.org/10.1155/2014/921350>.
- Moniente, M., Botello-Morte, L., García-Gonzalo, D., Virto, R., Pagán, R., Ferreira, V., & Ontañón, I. (2023). Combination of SPE and fluorescent detection of AQC-derivatives for the determination at sub-mg/L levels of biogenic amines in dairy products. *Food Research International*, 165, 112448.
- Montagné, N., Gévar, J., & Lucas, P. (2022). Semiochemicals and communication in insects. In *Extended Biocontrol* (pp. 173-181). Dordrecht: Springer Netherlands.

- Muriana, M. D. M. A. (2023). Evaluation of Advanced Analytical Methodologies for the Control of Pesticides and Natural Toxins in Waters, Food and Nutraceuticals (Doctoral dissertation, Universidad de Granada).
- Narendran, S. T., Meyyanathan, S. N., & Babu, B. J. F. R. I. (2020). Review of pesticide residue analysis in fruits and vegetables. Pre-treatment, extraction and detection techniques. *Food Research International*, 133, 109141.
- Nováková, L., & Vlčková, H. (2009). A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: chromatography and sample preparation. *Analytica chimica acta*, 656(1-2), 8-35.
- Ojiewo, C. O., Janila, P., Bhatnagar-Mathur, P., Pandey, M. K., Desmae, H., Okori, P., & Varshney, R. K. (2020). Advances in crop improvement and delivery research for nutritional quality and health benefits of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Frontiers in Plant Science*, 11, 29.
- Pati, S., Tufariello, M., Crupi, P., Coletta, A., Grieco, F. & Losito, I. (2021). Quantification of volatile compounds in wines by HS-SPME-GC/MS: Critical issues and use of multivariate statistics in method optimization. *Processes*, 9(4), 662.
- Rathinavel, K., Chandran, S., Chellamuthu, A., Adhimoolam, K., Sampathrajan, V., Rajasekeran, R. & Natesan, S. (2023). Marker-Assisted Genetic Enhancement of Provitamin A in Parental Lines of Sweet Corn Hybrids. *ACS Agricultural Science & Technology*, 4(1), 34-42.
- Razak, A., Altaf, I., Anjum, A. A., & Awan, A. R. (2023). Preparation of purified vaccine from local isolate of foot and mouth disease virus and its immune response in bovine calves. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(7), 103709.
- Robards, K., & Ryan, D. (2021). Principles and practice of modern chromatographic methods. Academic Press.
- Rodríguez, E. L., Poddar, S., Iftexhar, S., Suh, K., Woolfork, A. G., Ovbude, S., ... & Hage, D. S. (2020). Affinity chromatography: A review of trends and developments over the past 50 years. *Journal of Chromatography B*, 1157, 122332.
- Šikuten, I., Štambuk, P., Karoglan Kontić, J., Maletić, E., Tomaz, I., & Preiner, D. (2021). Optimization of SPME-Arrow-GC/MS method for determination of free and bound volatile organic compounds from grape skins. *Molecules*, 26(23), 7409.
- Singh, A. R., Singh, S. K., & Jain, S. (2022). A review on bioenergy and biofuel production. *Materials today: proceedings*, 49, 510-516.
- Snyder, L. R., & Dolan, J. W. (2023). Liquid–solid chromatography. In *Liquid Chromatography* (pp. 75-87). Elsevier.
- Sparks, D. L. (Ed.). (2003). *Advances in Agronomy* (Vol. 79). Academic Press.
- Stachniuk, A., Sumara, A., Montowska, M., & Fornal, E. (2021). Liquid chromatography–mass spectrometry bottom-up proteomic methods in animal species analysis of processed meat for food authentication and the detection of adulterations. *Mass spectrometry reviews*, 40(1), 3-30.

- Tiji, S., Benayad, O., Berrabah, M., El Mounsi, I., & Mimouni, M. (2021). Phytochemical profile and antioxidant activity of *Nigella sativa* L growing in Morocco. *The Scientific World Journal*, 2021(1), 6623609.
- Vinoth-Kumar, R., Ganesh Moorthy, I., Goswami, L., Pugazhenthii, G., Pakshirajan, K., Silva, A. M., & Morales-Torres, S. (2020). Analytical methods in biodiesel production. *Biomass valorization to bioenergy*, 197-219.
- Wongngam, W., Hamzeh, A., Tian, F., Roytrakul, S., & Yongsawatdigul, J. (2023). Purification and molecular docking of angiotensin converting enzyme-inhibitory peptides derived from corn gluten meal hydrolysate and from in silico gastrointestinal digestion. *Process Biochemistry*, 129, 113-120.
- Yang, Y., Saand, M. A., Huang, L., Abdelaal, W. B., Zhang, J., Wu, Y. & Wang, F. (2021). Applications of multi-omics technologies for crop improvement. *Frontiers in Plant Science*, 12, 563953.
- Yao, H., Xu, Y. L., Liu, W., Lu, Y., Gan, J. H., Liu, Y., & Xu, C. H. (2022). Taste compounds generation and variation of broth in pork meat braised processing by chemical analysis and an electronic tongue system. *Journal of Food Biochemistry*, 46(6), e13766.
- Zhang, Q. H., Zhou, L. D., Chen, H., Wang, C. Z., Xia, Z. N., & Yuan, C. S. (2016). Solid-phase microextraction technology for in vitro and in vivo metabolite analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 80, 57-65.
- Zhang, W., Yu, X., Xin, L., Xu, S., & Meng, X. (2024). Effect of rapid fermentation on the quality of northeastern sauerkraut analyzed based on HSSPME-GC-MS and LC-MS. *LWT*, 198, 116005.
- Zhou, B., Liu, X., Lan, Q., Wan, F., Yang, Z., Nie, X., & Laghi, L. (2024). Comparison of Aroma and Taste Profiles of Kiwi Wine Fermented with/without Peel by Combining Intelligent Sensory, Gas Chromatography-Mass Spectrometry, and Proton Nuclear Magnetic Resonance. *Foods*, 13(11), 1729.

Propagación *in vitro* de Cactáceas y Agaváceas tolerantes a metales pesados en el suelo

Recibido en: 31/06/2024

Aprobado en: 03/07/2024

 10.46420/9786585756365cap13

Lucila Perales-Aguilar 

Ernesto González-Gaona 

Olga Lidia Rivera-Dávila 

Leandris Argente-Martínez¹ 

Ofelda Peñuelas-Rubio¹ 

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue producir *in vitro* diferentes especies de Cactáceas y Agaváceas, para evaluar su tolerancia ante diferentes metales pesados. Para esto, se propagaron *in vitro* nueve especies de cactáceas y cinco especies de agaváceas, las cuales se sometieron en el laboratorio a diferentes concentraciones de metales pesados, evaluando principalmente el desarrollo de la parte aérea y de la raíz. De acuerdo con los resultados obtenidos se propagaron exitosamente las plantas *in vitro* y las especies de plantas para ser utilizadas en la remediación de suelos contaminados fueron: *Agave celsii*, *A. salmiana*, *Opuntia amyclaea*, *O. ficus-indica* y *O. robusta*.

INTRODUCCIÓN

La contaminación con metales pesados en el ambiente representa un impacto devastador para el hombre, los animales y las plantas, sobre todo por las altas concentraciones de estos elementos en el suelo, en sedimentos y en el agua, y que por su capacidad bioacumulativa entran a las cadenas tróficas, llegando en muchos casos a los alimentos que consumimos, lo cual puede ocasionar problemas serios en la salud humana, en la biodiversidad y en el ambiente. La mitigación de este tipo de contaminación, requiere de la participación de todos, pero sobre todo el desarrollo de estudios profundos con la participación de las instituciones de investigación y con el apoyo de todos los niveles de gobierno (Calderón-Guevara et al., 2023).

Una de las alternativas más prometedoras para resolver este problema, es el uso de plantas tolerantes a los metales pesados, que reduzcan de manera considerable las altas concentraciones en suelos contaminados. De acuerdo con diversos estudios realizados, algunas especies de cactáceas y agaváceas pueden ser utilizadas en programas de fitorremediación de suelos (Pitagan et al., 2023; Stavi, 2022), lo cual se comprobó en los resultados del presente estudio.

El género *Agave* comprende 300 especies que se consideran nativas de América. Su distribución son las zonas áridas y semiáridas. Son monocotiledóneas, suculentas con hojas en forma de roseta. El

Agave es una excelente alternativa para cultivar, por su capacidad de crecer con recursos hídricos limitados (Tripathi et al., 2023). El alto número de especies endémicas en México es debido a la diversidad y a su fisiología que les permite adaptarse a suelos pobres y con baja humedad. Es una planta hermafrodita, que posee inflorescencia en espiga. Sus flores son de color amarillo verde. Su fruto es capsular, leñoso, alargado (Barrientos et al., 2020).

La familia Cactaceae presenta cerca de 130 géneros con 1850 especies nativas del continente americano. México es el país que presenta la mayor diversidad de cactáceas en el mundo con 670 especies. Son especies que se consideran claves de las zonas áridas y semiáridas de América. Las cactáceas tienen gran diversidad en formas y tamaños, desde muy pequeñas hasta gigantes. Son un grupo monofilético (proviene de un solo ancestro común). Entre sus características están la presencia de areolas que son yemas axilares (zonas meristemáticas). El cambio evolutivo más representativo o adaptación fisiológica, es el reemplazo de espinas por hojas, lo que le da una doble adaptación a la pérdida de agua y le sirven como protección (Schwertner-Charão et al., 2023).

Todas las cactáceas tienen características altamente especializadas como tejidos que almacenan agua. Las plantas de zonas áridas muestran adaptaciones morfológicas (reducción de la superficie de la hoja o ausencia de ella) para soportar la falta de humedad y largos períodos de sequía. Los Agaves y Cactáceas son plantas CAM (Metabolismo ácido de las crasuláceas) ya que absorben CO₂ por la noche para conservar la humedad (Perumal et al., 2021; Tripathi et al., 2023).

México tiene una gran diversidad de especies con el metabolismo CAM. La fotosíntesis C₄ y CAM, son los mecanismos que han surgido de la evolución de las plantas para disminuir la pérdida de la energía que se asocia a la fotorrespiración. Las plantas CAM xerofitas responden a la capacidad de incremento en la eficiencia en el uso del agua al abrir las estomas durante la noche, cuando las tasas de transpiración son menores. Para las cactáceas que viven en ambientes áridos, la asimilación de CO₂ tiende a incrementarse de manera lineal con el flujo de fotones para la fotosíntesis (400 y 700 nm) y se satura cuando el flujo de fotones para la fotosíntesis total diaria alcanza 30 mol m⁻² d⁻¹. La asimilación de CO₂ en *Agave deserti* y *Ferocactus acanthodes* es de 25/15 °C (Andrade et al., 2007).

Más de 700 especies vegetales en todo el mundo tienen la capacidad de acumular en sus tejidos, sobretodo en la parte aérea, altas cantidades de metales, este proceso fisiológico es una adaptación de las plantas a los suelos metalíferos donde crecen y se desarrollan (Alfonso et al., 2020). Por todo esto, el objetivo del presente trabajo fue propagar *In vitro* diferentes especies de cactáceas y agaváceas, para evaluarlas como tolerantes a los metales pesados, para su posible uso en programas de fitorremediación de suelos.

PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE PLANTAS TOLERANTES A METALES PESADOS

La propagación *in vitro* es una reproducción asexual en plantas que mediante la adición de hormonas vegetales como auxinas y citocininas a un medio de cultivo, las especies vegetales se reproducen en corto tiempo, en espacios reducidos, obteniendo plantas sanas. Esta herramienta sirve en la investigación con metales pesados, porque ayuda a entender las relaciones plantas-contaminantes (Perales et al., 2019).

Los Agaves se propagan mediante biotecnología vegetal para el establecimiento *in vitro*, sobre todo mediante el uso de semillas, ya que presenta mayor porcentaje de asepsia, hasta un 90%. La propagación *in vitro* cada vez es más utilizada para la reproducción y conservación de especies de zonas áridas y semiáridas (Aguilar-Rito et al., 2023).

Las cactáceas tienen un ritmo de crecimiento muy lento y largos ciclos de vida (Schwertner-Charão et al., 2023). Una de las dificultades que presentan las plantas tolerantes a metales pesados, es el desarrollo de una metodología eficiente para su propagación. El cultivo de tejidos vegetales o propagación *in vitro* son de gran importancia para tener un gran número de plantas y reducir los problemas de contaminación ambiental (Piotto et al., 2014). Son eficientes para la producción de plantas, ya que no solo permite generar grandes cantidades, sino que también se pueden realizar estudios para evaluar su efectividad para reducir la presencia de contaminantes (Perales et al., 2019).

En la figura 1a se observan tres explantes *in vitro* del género *Opuntia* y en la figura 1b una planta regenerada *in vitro* del género *Agave* con su parte aérea y raíz.



Figura 1. a) Explantes del género *Opuntia* y b) Planta regenerada *in vitro* del género *Agave*.

Para el éxito de la propagación *in vitro* de agaves y cactáceas se utiliza la citocinina 6-benciladenida (BA) que promueve la división y diferenciación celular, y el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) conocido como MS. Se establecen *in vitro* los explantes (tejido meristemático) para pasar a una etapa de multiplicación, seguida de una etapa de enraizamiento que consiste en inducir las raíces de los brotes obtenidos en la etapa de multiplicación y finalmente las plantas pasan a una etapa de aclimatación, que es

en primer lugar en invernadero, para concluir finalmente en la adaptación en campo (Aureoles-Rodríguez et al., 2008).

Muchas especies de zonas áridas y semiáridas se encuentran amenazadas o en peligro de extinción y el empleo de la técnica de propagación *in vitro* ayuda a la multiplicación y conservación de especies como los Agaves y Cactáceas, como las especies *Opuntia robusta* y *Agave peacockii* (Figura 2) (Aureoles-Rodríguez et al., 2008).

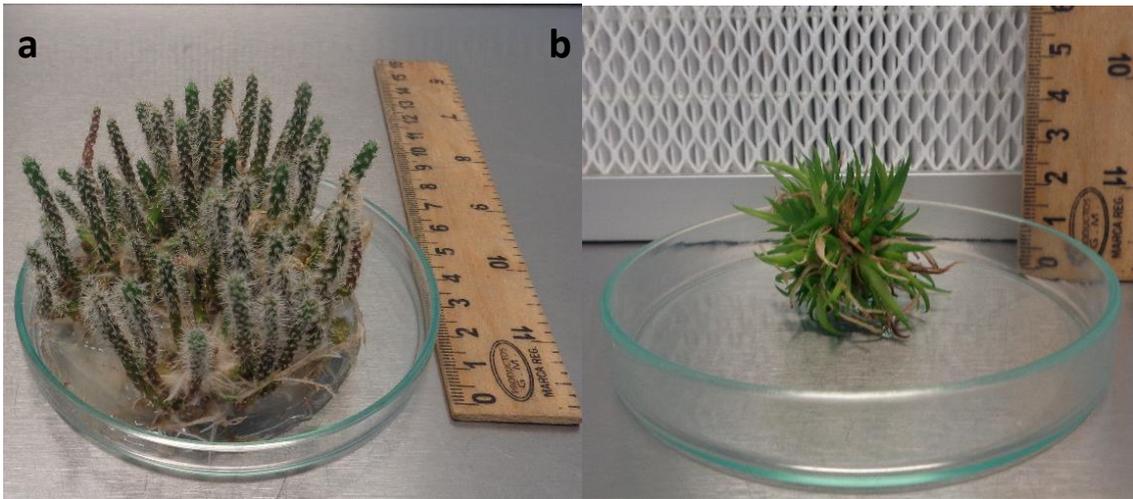


Figura 2. a) Brotes de *Opuntia robusta* y b) Brotes de *Agave peacockii*.

Para la inducción de brotes de Agaves se añade al medio de cultivo MS 2 mg L⁻¹ de BA y 8 g L⁻¹ de agar SIGMA. Para las cactáceas se utiliza 1 mg L⁻¹ de BA y 10 g L⁻¹ de agar SIGMA. Esto con el fin de obtener el mayor número de plantas posibles en poco tiempo y con la formación y desarrollo de las raíces para regenerar la planta completa.

METALES PESADOS Y LA CONTAMINACIÓN DEL SUELO

Los metales pesados están presentes naturalmente en los suelos, en diferentes concentraciones de acuerdo con el material que le dio origen, pero actualmente se presenta una acumulación antropogénica por las actividades humanas como la minería. En el suelo la movilidad de los metales pesados disminuye cuando se incrementa el pH. Los metales causan daños a las plantas debido a que reducen la actividad enzimática. Si el metal tiene alta solubilidad con el suelo como el Cadmio (Cd), se transloca a las partes aéreas de las plantas, aumentando el riesgo de que sea incorporado a la cadena alimenticia, por su similitud con el Ca. Entre los efectos tóxicos de los metales en plantas se encuentra la clorosis, reducción de la actividad fotosintética, inhibición en la apertura de estomas y reducción en la actividad enzimática (Riopedre-Galán et al., 2021).

Los metales pesados son elementos químicos que tienen una alta densidad y son tóxicos en concentraciones muy bajas (ppm) como Cu, Cd, Cr y Pb. La bioacumulación es el proceso mediante el cual los metales pesados pueden pasar a los diferentes cultivos y organismos vivos. Las plantas necesitan de micro y macro nutrientes, algunos metales Fe, Mn y Zn son esenciales para metabolismo, pero en concentraciones altas son tóxicos (Pérez-García et al., 2023). Otro grupo de metales como Cd, Cr y Pb no presentan función biológica conocida y en concentraciones bajas provocan disfunciones graves en las plantas (Alberto et al., 2022).

La movilidad de los metales pesados en el suelo y la absorción en plantas se relaciona con el pH, el contenido de materia orgánica, potencial redox etc. Es importante estudiar la composición y propiedades del suelo para comprender el paso de los metales pesados a las plantas (Pérez-García et al., 2023).

La exposición a metales pesados causa daños ambientales graves y daños directos al hombre por los efectos negativos sobre la salud. Los metales pesados encontrados en suelos son Cu, Cr, Pb, Mn y Zn (Guzmán-Morales et al., 2021a).

Los metales pesados presentan diferentes efectos sobre las plantas, en el cuadro 1, se mencionan los principales efectos de la toxicidad de estos elementos en la fisiología y morfología de las plantas.

Cuadro 1. Efectos adversos de los metales pesados en las plantas.

Metal pesado	Efectos en plantas
Cd	Interfiere en la absorción y el transporte de Ca, Mg, P y K. Disminuye la fijación de nitrógeno.
Cu	Reducción de la biomasa. Malformación.
Cr	Daña la morfología de la planta. Disminución en la adquisición de nutrientes.
Fe	Menor crecimiento. Reducción de la biomasa.
Mn	Manchas de color marrón. Necrosis en hojas, pecíolo y tallo.
Pb	Inhibe el alargamiento de la raíz y tallo. Engrosamiento irregular en la raíz.
Zn	Alteraciones en las estructuras de los cloroplastos. Deficiencia de nutrientes porque compite con P, Mg y Mn.

PROBLEMÁTICA DE CONTAMINACIÓN EN ZONAS ÁRIDAS Y SEMIÁRIDAS

Los Agaves y las Cactáceas tienen una gran importancia ecológica para las zonas áridas y semiáridas. La pérdida de su hábitat y la disminución en sus poblaciones va en aumento cada día y se encuentran amenazadas o en peligro de extinción, debido a cambios ambientales por sitios contaminados. Su análisis, estudio e investigación para resolver las problemáticas ambientales debe incrementarse debido a que son plantas adaptadas a condiciones adversas y que poseen mecanismos de resistencia ante tóxicos como los metales pesados (Bezerra-Silva et al., 2024).

En México la contaminación del suelo y del agua (superficial y subterránea) ha aumentado como resultado de la explotación de nuestros recursos naturales mediante actividades humanas que provocan daños graves al ambiente en todos los ecosistemas. La valoración de las especies vegetales en ambientes contaminados contribuye al manejo técnico-biológico para restablecerlas y utilizarlas para biorremediación (Chang-Quijano et al., 2021).

En sitios contaminados por la minería se pierde la cubierta vegetal y la erosión se incrementa (Pérez-García et al., 2023). En el estado de Aguascalientes en los municipios de Asientos y Tepezalá, se presenta esta problemática en sitios cercanos a cuerpos de agua como la presa El Niágara, debido a actividades mineras para la extracción de metales como plata, oro, plomo, cobre y zinc. Los ecosistemas han sufrido un impacto negativo. El suelo funciona como filtro, pero si se rebasan los límites de contaminación se pierde su capacidad amortiguadora (Perales et al., 2019).

La presencia de metales pesados en el suelo altera la sostenibilidad de la cadena trófica y provoca daños más graves a los ecosistemas. Los metales pesados tienen una relación directa en la contaminación de los suelos, principalmente mediante el riego con agua contaminada. La contaminación de suelos con metales pesados destruye el poder de autodepuración natural por procesos de regeneración biológica normal. En plantas, los metales pesados afectan negativamente los hábitats, lo que deriva en problemas ecológicos, evolutivos y nutricionales (Alberto et al., 2022).

La contaminación del ambiente por metales pesados tiene un impacto negativo fuerte en los recursos naturales y en los seres vivos, poniendo en peligro la supervivencia del planeta. Conocer la concentración de elementos tóxicos en los ecosistemas nos ayuda a saber la calidad de los suelos y sirve como fundamento para realizar estudios para resolver esta problemática a nivel mundial (Muñiz, 2022).

REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS

Para remediar suelos contaminados por metales pesados se usan técnicas físicas como la excavación, fijación y lixiviación, pero presentan costos elevados y deterioran el sitio tratado. Por otro lado, existen plantas que por su naturaleza pueden establecerse en medios contaminados por metales pesados y acumularlos en sus tejidos, lo que se conoce como fitorremediación, que comprende los procesos dirigidos a liberar el contaminante de la matriz del suelo (descontaminación) o retenerlos en

dicha matriz (estabilización). Es una técnica que ha ganado aceptación, porque es una tecnología limpia que contribuye a la conservación de plantas del semidesierto (Pérez-Villar et al., 2022).

Durante estos últimos años, ha avanzado la tecnología para eliminar metales pesados. La biorremediación trata residuos tóxicos, entre los métodos de esta tecnología se encuentra la fitorremediación que es el uso plantas para depurar sitios contaminados, principalmente con dos técnicas la fitoextracción y la fitoestabilización (Cartaya et al., 2022). La fitorremediación es una alternativa ecológica, moderna, que utiliza plantas para detoxificar suelos contaminados, de manera económica y ambientalmente aceptada. Este método recupera la cubierta vegetal de los suelos y se emplea en todo el mundo (Guzmán-Morales et al., 2021b).

La disponibilidad de un modelo de cultivo económico, rentable, para estudiar mecanismos de acumulación en plantas ante la presencia de tóxicos, como los mecanismos de fitoextracción, fitoestabilización son métodos de fitorremediación para remediar zonas contaminadas por metales pesados (Guzmán-Morales et al., 2021).

La toxicidad de los metales pesados en plantas depende de la especie, el metal involucrado, su concentración, la forma química, la composición del suelo y su pH (Alberto et al., 2022). La evaluación del potencial de fitorremediación en suelos con metales pesados, se puede estimar mediante los coeficientes biológicos, como el coeficiente de absorción biológica que se estima dividiendo la concentración del metal en la raíz entre la concentración del metal en el suelo. El factor de translocación biológico o de transferencia biológica, asocia la concentración del metal en la raíz entre la concentración del metal en la parte aérea de la planta (Pérez-Villar et al., 2022).

La fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados es una técnica con grandes posibilidades actualmente y es muy amigable con el ambiente. El uso de plantas tolerantes a altos niveles de metales en suelo permite la restauración y conservación de suelos contaminados (Prieto et al., 2009).

MECANISMOS DE RESISTENCIA EN PLANTAS A LOS METALES PESADOS

Algunas especies desarrollan mecanismos complejos fisiológicos para minimizar los efectos negativos de los metales pesados, a través de la absorción, acumulación y translocación de estos contaminantes en el tejido vegetal. Gracias a estos mecanismos los daños en las células no se presentan, provocando así la tolerancia de las plantas ante estos tóxicos. Las plantas degradan, extraen o inmovilizan a los contaminantes, por ello el impacto de su estudio. Los mecanismos fisiológicos permiten secuestrar rápidamente el metal y acumularlo en las partes aéreas, la planta se desarrolla sin presentar efectos tóxicos visibles (Guzmán-Morales et al., 2021).

Los principales mecanismos que se presentan en las células vegetales en plantas usadas para biorremediación son (Shaari et al., 2021):

- 1) Unión en la pared celular

- 2) Cambios en la permeabilidad de iones
- 3) Exclusión activa
- 4) Biotransformación
- 5) Quelación extra e intracelular
- 6) Compartimentación del metal

La absorción de Cd en la célula vegetal es a través de transportadores de Ca, Fe, Mn, Cu y Zn. El Ca y el Cd para transportarse compiten por los mismos canales de Ca. El Cd es móvil y soluble en agua entonces ingresa por la raíz, por lo general el Cd se queda en la raíz, gracias a un sistema complejo de adsorción, quelación y compartimentación. Algunos metales pesados se quedan retenidos en la pared celular de las raíces (Shaari et al., 2021).

Los contaminantes pueden entrar a la planta por vía foliar, dependiendo de la morfología y la tasa de respiración de la planta para su ingreso (Riopedre-Galán et al., 2021).

El conocimiento de los mecanismos específicos aporta información relevante para los modelos biológicos y poder así utilizar plantas para descontaminar los suelos (Cortés et al., 2018). Existen las plantas clasificadas como metalófitas, que han desarrollado mecanismos fisiológicos para resistir, tolerar y sobrevivir en suelos contaminados por las actividades mineras (Jara-Peña et al., 2014).

Los metales pesados provocan estrés oxidativo en las plantas, lo que lleva a la muerte celular. Las plantas han desarrollado mecanismos de defensa para minimizar el impacto negativo de los metales en las células, para lo cual secuestran en su vacuola al metal y lo inactivan en compartimientos celulares, donde quedan excluidos de los procesos de respiración y división celular, y así no causan daños en las plantas (Figura 3).

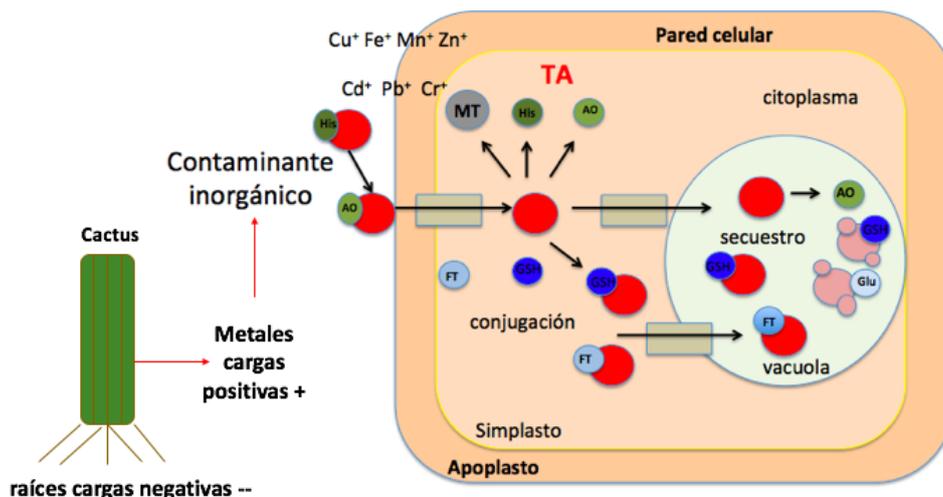


Figura 3. Mecanismos de defensa en las células de plantas ante la presencia de metales pesados (elaboración propia).

PLANTAS TOLERANTES A METALES PESADOS

La absorción y acumulación de metales pesados en las plantas depende de la movilidad de las especies de metales en el suelo y también de la eficiencia de la planta para tomar y acumular al contaminante. Las plantas pueden acumular un elemento hasta cierto nivel. Las plantas que toleran de 10 a 100 veces al tóxico se llaman hiperacumuladoras, y son muy importantes para remediar terrenos contaminados. Estas plantas toleran concentraciones por encima de los índices considerados como tóxicos (Pérez-García et al., 2023).

A través de bioensayos de ecotoxicidad de metales pesados con pruebas de fitotoxicidad con plantas se pueden tomar decisiones para evaluar la perturbación de los ecosistemas y proponer alternativas de biorremediación. La respuesta de las plantas a los metales pesados puede ser atribuida a factores genéticos y fisiológicos. El uso de plantas tolerantes ayuda a la revegetación en suelos afectados por la minería (Iannacone & Alvariño, 2005).

Evaluar los contenidos de metales pesados en plantas y su movilidad, permitirá evaluar los riesgos ambientales de toxicidad. Las plantas acumuladoras poseen la capacidad de almacenar cantidades extraordinarias del tóxico. La acumulación de metales no es una característica común en la mayoría de las plantas, sino que es una respuesta evolutiva (Peña et al., 2018).

La capacidad que tienen las plantas tolerantes para crecer en suelos contaminados puede servir en proyectos para rehabilitación y recuperación de la cubierta vegetal para la conservación de los recursos fitogenéticos (Alfonso et al., 2020).

El género *Agave* se reporta como tolerante a los metales pesados por lo que se puede usar para fitoestabilizar sitios contaminados para remediación (Perales et al., 2019).

La especie de cactáceae *Pereskia sacharosa* propagada *in vitro* en el tratamiento testigo, presentó buen desarrollo de la parte aérea y de la raíz (Figura 4).



Figura 4. Respuesta del testigo S/A de la especie *Pereskia sacharosa*.

La especie de cactácea *Pereskia sacharosa* se Cu (0.2 mM) presentó un menor desarrollo radical en el tratamiento con Cu (0.2 mM), comparado con los demás tratamientos con metales pesados, Fe (1 mM), Mn (1.6 mM) y Zn (0.48 mM) (Figura 5).



Figura 5. Respuesta de *Pereskia sacharosa* a los tratamientos con a) Cu, b) Fe, c) Mn y d) Zn.

La especie de cactácea *Pereskia sacharosa* en los tratamientos con metales pesados Cd (0.005 mM), Cr (1 mM) y Pb (0.4 mM), presenta semejante desarrollo de las raíces (Figura 6).



Figura 6. Respuesta de la especie *Pereskia sacharosa* en los tratamientos con los metales pesados a) Cd, b) Cr y c) Pb.

Se observa la presencia de raíz en los tres tratamientos con metales pesados Cd, Cr y Pb. La especie *Pereskia sacharosa* es tolerante ante la presencia de estos metales pesados.

En los cuadros 2 y 3 se enlistan las especies de zonas áridas tolerantes a metales pasados clasificadas en Fitoestabilizadora (F), hiperacumuladora (H), indicadora (I) y exclusora (E) según la concentración de metal pesado en la parte aérea y su concentración en la raíz.

Las especies de cactáceas evaluadas ante los metales pesados presentan diferentes respuestas ante la presencia de cinco metales y se incluyen en diferente tipo de clasificación (Cuadro 2).

Cuadro 2. Plantas cactáceas tolerantes a metales pesados (Perales *et al.*, 2019).

Clasificación							
Especies	Cd ²⁺	Cu ²⁺	Cr ⁶⁺	Fe ²⁺	Mn ⁺²	Pb ²⁺	Zn ²⁺
<i>Opuntia amyclaea</i>	F	F	F	F	I	E	F
<i>Opuntia basilaris</i>	F	F	F	H	H	E	F
<i>Opuntia cochenillifera</i>	E	F	F	F	H	F	H
<i>Opuntia ficus-indica</i>	E	F	E	F	H	F	F
<i>Opuntia macrocentra</i>	F	F	F	F	H	E	H
<i>Opuntia robusta</i>	E	F	E	F	H	F	F
<i>Pereskia sacharosa</i>	F	F	F	F	H	F	I
<i>Pilosocereus chrysacanthus</i>	H	F	F	H	F	F	H
<i>Polaskia chichipe</i>	F	F	F	H	F	E	H

F = Fitoestabilizadora, H= Hiperacumuladora, I = Indicadora, E= Exclutora

El tratamiento testigo (S/A) de *A. celsii*, desarrollo tejido verde poco robusto y poca raíz (Figura 7).



Figura 7. *Agave celsii*.

La especie *Agave celsii* desarrolló más tejido verde y raíz con el tratamiento de Fe (1 mM) y con la aplicación de Cu (0.2 mM), en comparación con los otros dos tratamientos (Figura 8).

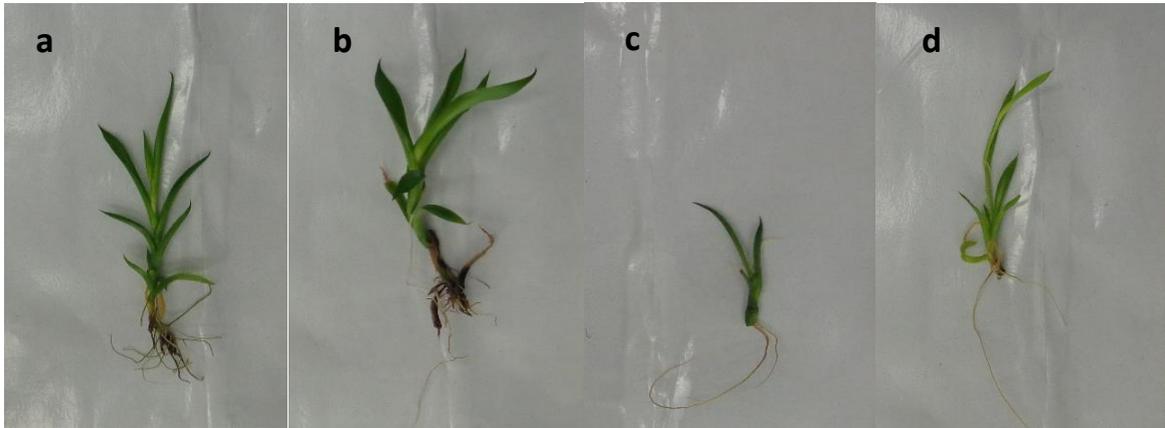


Figura 8. Respuesta de *Agave celsii* a los tratamientos con a) Cu, b) Fe, c) Mn y d) Zn.

En el tratamiento con Mn el desarrollo en la parte aérea fue menor en comparación con el resto de los tratamientos con metales.

La especie *Agave celsii* desarrolló más raíz en los tratamientos con metales pesados Cd (0.005 mM), Cr (1 mM) y muy poca con Pb (0.4 mM) (Figura 9).

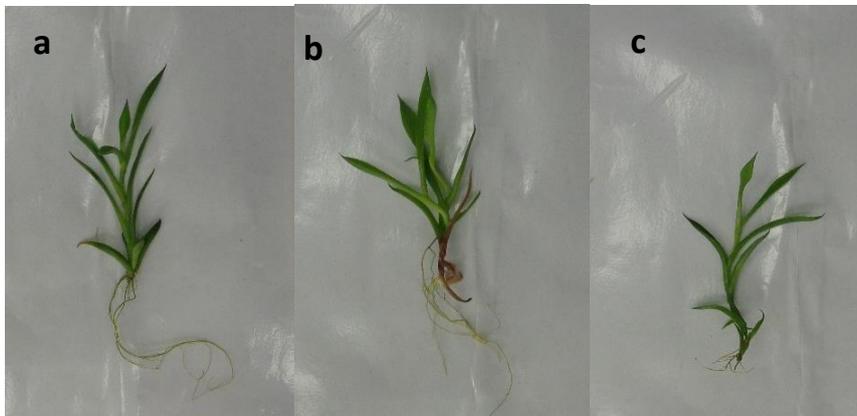


Figura 9. Respuesta de *Agave celsii* a los tratamientos con a) Cd, b) Cr y c) Pb.

La especie *Agave celsii* desarrolló poca raíz en el tratamiento con plomo a diferencia de los tratamientos con Cd y Cr donde el desarrollo de la raíz es mayor. De acuerdo con los resultados obtenidos, varias las especies del género *Agave* son tolerantes a diferentes niveles ante la presencia de cinco metales pesados (Cuadro 3).

La evaluación de la fitotoxicidad por metales pesados contribuye al desarrollo de técnicas ambientales para minimizar o erradicar los contaminantes presentes en el suelo. Estas especies clasificadas como fitoestabilizadoras de metales tienen un uso potencial para aprovecharse en el tratamiento de suelos

contaminados. Evaluar la fitoestabilización *in situ* de plantas en los suelos contaminados por metales pesados, servirá para resolver parte de la problemática de contaminación ambiental. El estudio de plantas tolerantes a contaminantes es una alternativa de manejo técnico biológico para remediar sitios con altas concentraciones de metales pesados.

Cuadro 3. Plantas género *Agave* tolerantes a metales pesados (Perales et al., 2019).

Clasificación							
Especies	Cd ²⁺	Cu ²⁺	Cr ⁶⁺	Fe ²⁺	Mn ⁺²	Pb ²⁺	Zn ²⁺
Agave celsii	F	F	F	F	I	E	F
Agave chiapensis	H	F	E	F	H	E	F
Agave obscura	F	F	F	F	H	E	H
Agave palmeri	E	F	E	F	H	E	F
Agave salmiana	F	F	F	F	F	E	F

F = Fitoestabilizadora, H= Hiperacumuladora, I = Indicadora, E= Exclusera

CONCLUSIONES

La propagación *in vitro* de Agaves y Cactáceas fue exitosa con las concentraciones de BA y el uso del medio MS óptimo y agar para la obtención de brotes.

Las especies *Agave celsii*, *A. salmiana*, *Opuntia amyclaea*, *O. ficus-indica* y *O. robusta* tienen uso potencial para su aprovechamiento en la restauración de sitios contaminados con los metales pesados Cd, Cu, Cr, Fe y Zn. Son plantas que al ser clasificadas como fitoestabilizadoras pueden inmovilizar el metal en la interfase suelo-raíz y también se pueden usar para conservación de la biodiversidad de cactáceas y agaváceas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Rito, M. G., Arzate-Fernández, A. M., García-Nuñez, H. G., & Norman-Mondragón, T. H. (2023). Establishment of an efficient protocol for *in vitro* disinfection of sedes of seven Agave spp. species. Mexican Journal of Phytopathology. 42(1): 1- 5. <https://doi.org/10.18781/R>.
- Alberto, N. M., Bello, L., & Díaz, O. (2022). Metales pesados en suelos agrícolas del Caribe Insular: estado actual e índices de contaminación. Centro Agrícola. 49(1):60-66.<https://cu-id.com/2153/cag091222357>.
- Alfonso, D., Reyes, R., Rodriguez, D., & Menéndez, E. (2020). Plantas que acumulan metales, su importancia. *Leucocroton havanensis* Borhidi hiperacumulación de níquel. Revista investigaciones ULCB. 6(2): 7-17. <https://doi.org/10.36955/RIULCB.2019v6n2.001>.
- Andrade, J. L., De la Barra, E., Reyes-García, C., Ricalde, M. F., Vargas-Soto, G., & Cervera, J. C. (2007). El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. Boletín

de la Sociedad Botánica de México. 81: 37-50. Chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/577/57708102.pdf.

- Aureoles-Rodríguez, F., Rodríguez-de la O, J. L., Legaria-Solano, J. P., Sahagún-Castellanos, J., & Peña-Ortega, M. G. (2008). Propagación *in vitro* del Maguey bruto (*Agave inaequidens* Kock), una especie amenazada de interés económico. *Revista Chapingo. Serie horticultura*. 14(3): 263-269. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2008000300006.
- Barrientos, G., Esparza, E. L., Segura, H. R., Talavera, O., Sampedro, M. L., & Hernández, E. (2020). Caracterización morfológica de *Agave angustifolia* y su conservación en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 10(3): 655-667. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i3.1554>.
- Bezerra-Silva, A., Albuquerque-Lima, S., Nóbrega, V. G., Cardoso, A., Dantes, M. T., Thay, M., Machado, I. C., & Silveira F. (2024). When are Cacti Found with Flowers and Fruits? Estimation of the Reproductive Phenology of the Genus *Xiquexique* Base don Herbarium Data. *Diversity*. 79 (1-16). <https://doi.org/10.3390/d16020079>.
- Calderon-Guevara, M. N., Carpio-Rivera, N. Y., & Galarza-Mora, W. G. (2023). Metales Pesados Cd, Pb y Hg: Una Problematica de Salud Publica en el Contexto de las Relaciones Internacionales e importancia de la academia en su mitigacion. *MQRInvestigar*, 7(3), 2545-2578. <https://doi.org/10.56048/MQR20225.7.3.2023.2545-2578>.
- Cartaya, O., Moreno, A. Ma., Guridi, F., & Cabrera, J. (2022). Mezcla de oligogalacturónidos para la fitoextracción de metales pesados en suelos contaminados. *Cetro Agrícola*. 49(3):19-27. <https://cu-id.com/2153/cag033222371>.
- Chan-Quijano, J. G., Cach-Pérez, M. J., & López-Mejía, M. (2021). Especies vegetales con uso potencial en la remediación de zonas contaminadas en México. *Revista forestal de Perú*. 36(1): 22-46. <http://dx.doi.org/10.21704/rfp.v1i36.1703>.
- Cortés, A. A., Sánchez-Fortún, S., & Bartolomé, Ma. C. (2018). Mecanismos de resistencia a metales tóxicos (Cd) bajo variaciones abióticas en microalgas. *Revista Especialidad en Ciencias Químico-Biológicas*. 21(1):40-52. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
- Guzmán-Morales, A. R., Cruz-La Paz, O., Valdés-Carmenate, R., & Váldez-Hernández, P.A. (2021a). Evaluación de la contaminación por metales pesados y su acumulación en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Inca*. 42(4): 1- 13. <http://ediciones.inca.edu.cu>
- Guzmán-Morales, A. R., Oriol-Vázquez, P., Cruz-de la Paz, O., Váldez-Carmenate, R., & Valdés-Hernández, P. A. (2021b). Fitotecnología para la recuperación de agroecosistemas contaminados con metales pesados por desecho industrial. *Centro de investigaciones agropecuarias*. 48(3):43-52. <http://ediciones.inca.edu.cu>
- Iannacone, J. y Alvaríño, F. (2005). Efecto ecotoxicológico de tres metales pesados sobre el crecimiento radicular de cuatro plantas. *Agricultura técnica*. 65(2):198-203.

- Jara-Peña, E., Gómez, J., Montoya, H., Chanco, M., Mariano, M., & Cano, N. (2014). Capacidad fitorremediadora de cinco especies altoandinas de suelos contaminados con metales pesados. *Revista peruana de biología*. 21(2):145-154. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v21i2.9817>.
- Muñis, O. (2022). Contenido de metales pesados como criterio de calidad del suelo. *Ingeniería Agrícola*. 12(3): 58-61. <https://orcid.org/0000-0003-4872-3606>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3).
- Peña, E., Aguilar, G., & Herrera, F. (2018). Bioconcentración y riesgos por metales en plantas cultivadas y ruderales comestibles del estado Vargas, Venezuela. *Agrobiología*. 30:577-567.
- Perales, L., Santos, Ma. del S., Ramos, M. S., & Pérez, E. (2019). Análisis *in vitro* de la acumulación de metales pesados en plantas de la familia Asparagaceae tolerantes a la baja disponibilidad de agua. *Nova Scientia*, 12(24). DOI:10.21640/ns.v12i24.2081.
- Pérez-García, L., Crespo-Lambert, M., Leyva-Rodríguez, C. A., & Cuza-Fernández, G. (2023). La bioacumulación de metales pesados y el desarrollo de la agricultura urbana en Moa. *Minería y Geología*. 39(3):174-187.
- Pérez-Villar, M. M., Zorrilla-Velazco, M., Domínguez-Martínez, L., González-Roche, Y. M., & González-González, M. (2022). Determinación de los coeficientes de fitorremediación de cadmio y plomo en el Romerillo americano. *Revista Cubana de Química*. 34(3): 477 – 493.
- Perumal, R., Prabhu, M., Kannan, M., & Srinivasan, S. (2021). Taxonomy and Grafting of Ornamental Cacti. *Agricultural Reviews*. 42(4): 445-449.
- Piotto, F. A., Tulmann-Neto, A., Regina, M., Boaretto, L. F., & Antunes, R. (2014). Rapid screening for selection of heavy metal-tolerant plants. *Brazilian Society of Plant Breeding*. 14: 1-7.
- Pitagan, P. A., Melendres, K., Abonita, A., & Escaño-Alcaraz, K. J. (2023). Phytoremediation of Lead, Arsenic and Chromium Polluted Soil Using *Opuntia* spp.(Dilang-Baka). *BIODIVERS-BIOTROP Science Magazine*, 2(2), 38-45.
- Prieto, J., González, C. A., Román, A. D., & Prieto, F. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 10 (1): 29-44. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcgclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/939/93911243003.pdf](https://efaidnbmnnnibpajpcgclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/939/93911243003.pdf)
- Riopredre-Galán, T., Delgado-Álvarez, A., Cabrera-Rodríguez, J. A., & Cartaya-Rubio, O. E. (2021). Relación entre los metales pesados y los hongos formadores de micorrizas. *Inca*. 42(4):1-14.
- Schwertner-Charão, L., Treviño-Carreón, J., & Delgado, R. (2023). The fascinating adaptations of cacti and the evolutionary history. *CIENCIA Ergo-Sum*. 30(2): 1-11.

- Shaari, N. E. M., Khandaker, M. M., Majrashi, A., Alenazi, M. M., Abdullahi, U. A., & Mohd, K. S. (2021). Cadmium toxicity symptoms and uptake mechanism in plants: a review. *Brazilian Journal of Biology*. 1-17. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.252143>
- Stavi, I. (2022). Ecosystem services related with *Opuntia ficus-indica* (prickly pear cactus): A review of challenges and opportunities. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 46(6), 815-841.
- Tripathi, H., Kuman, A., Chand, G., Kumar, R., Durgapal, A., Mahajan, L., Joshi, P., & Kumar, S. (2023). An overview of phytomedicinal, ethnobotanical applications and phytochemical constituents of four major Agave speices. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 14(2): 148-161.

Índice Remissivo

A

agar, 194, 203
agaváceas, 191, 192, 203
Análisis proximal, 91

B

Bahía de Lobos, 8, 9, 10, 13
biofertilización, 6, 14

C

cactáceas, 191, 192, 193, 194, 201, 203
Convolvulus arvensis, 73, 74
Cromatografía de gases, 168

E

Extracción por arrastre de vapor, 28, 29
Extracción por maceración, 29, 30
extractos de plantas, 139, 146, 148

F

feromonas, 139, 142
fitoestabilización, 197, 203
Formulación, 206

I

in vitro, 139, 140, 141

M

metales pesados, 191, 192, 193, 194, 195, 196,
197, 198, 199, 200, 201, 202, 203
México, 208

P

Parkinsonia aculeata, 6, 8
Pleurotus, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56
Proteína cruda, 92
Pulsos ultrasónicos, 32

Q

Quitinasas, 63

S

semi-desierto, 9
semioquímicos, 139, 149

T

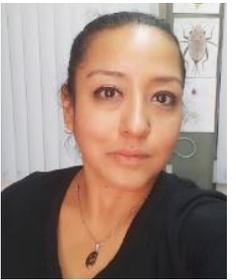
transgénicos, 139



Dr. Leandris Argente-Martínez. Profesor Investigador Titular C, del Tecnológico Nacional de México, Campus valle del Yaqui. Doctorado en Ciencias Biotecnológicas por el Instituto Tecnológico de Sonora. Miembro del Sistema Nacional de Investigadoras e Investigadores (SNII) Nivel 1. Profesor Perfil Deseable (PRODEP) de la Secretaría de Educación Pública de México, Líder del Cuerpo Académico ITVAYA-CA-3. Línea de investigación: Agricultura sustentable, Fisiología, Bioquímica, Biología Celular y Molecular del estrés.



Dra. Ofelda Peñuelas-Rubio. Profesora Investigadora Titular C, del Tecnológico Nacional de México, Campus valle del Yaqui Doctorado en Ciencias Biotecnológicas por el Instituto Tecnológico de Sonora. Miembro del Sistema Nacional de Investigadoras e Investigadores (SNII) Nivel 1. Profesora Perfil Deseable (PRODEP) de la Secretaría de Educación Pública de México, Miembro del Cuerpo Académico ITVAYA-CA-3. Línea de investigación: Agricultura sustentable, Fisiología, Bioquímica, Biología Celular y Molecular de sistemas terrestres y costeros.



Dra. Lucila Perales-Aguilar. Profesora Investigadora del Tecnológico Nacional de México, miembro del S.N.I. candidata, con experiencia en biotecnología de plantas del semidesierto y remediación de suelos contaminados con metales pesados. Profesor con perfil deseable de la Secretaría de Educación Pública. Línea de investigación sobre Producción de Cactáceas y Agavaceas *in vitro* y remediación de suelos del semidesierto



Dr. Ugur Azizoglu es profesor asociado en el Departamento de Producción Agrícola y Animal de la Universidad de Kayseri y actualmente continúa su investigación en el Centro de Células Madre y Genoma de la Universidad Erciyes (GENKÖK), Türkiye. Se graduó de la Facultad de Ciencias y del Departamento de Biología de la Universidad Erciyes en julio de 2007 y obtuvo una Maestría en Ciencias en Biología en junio de 2009. Completó su doctorado en el Departamento de Biología de la Universidad Erciyes en 2014. El enfoque de sus estudios es la biotecnología microbiana, el control biológico, las bacterias genéticamente modificadas y las

bacterias promotoras del crecimiento de las plantas. El Dr. Azizoglu ha participado en numerosas conferencias y talleres y se ha desempeñado como revisor de revistas internacionales.



El presente compendio científico “Biotecnología agropecuaria aplicada” aborda temas relevantes del área agropecuaria. Se hace énfasis en el aprovechamiento de microorganismos bacterianos y fúngicos y su potencial uso en los agroecosistemas. Estas aplicaciones con la finalidad de promover prácticas sustentables de producción, desde la promoción del crecimiento vegetal en condiciones ambientales adversas, el biocontrol de fitopatógenos y malezas, así como la biorremediación. También se exploran metodologías novedosas para la obtención de compuestos antioxidantes y antifúngicos. Además, se presentan avances en la elaboración de nuevos alimentos para la producción acuícola, como alternativas para la nutrición efectiva.

Los trabajos aquí presentados constituyen evidencias de los pasos sólidos que dan los diferentes grupos de investigación nacionales e internacionales del área de la biotecnología agropecuaria. Se agradece la participación de los autores que pertenecen al Sistema Nacional de Investigadoras e Investigadores (SNII-CONAHCYT) de los Estados Unidos Mexicanos.



Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil
Telefone (66) 9608-6133 (Whatsapp)
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br