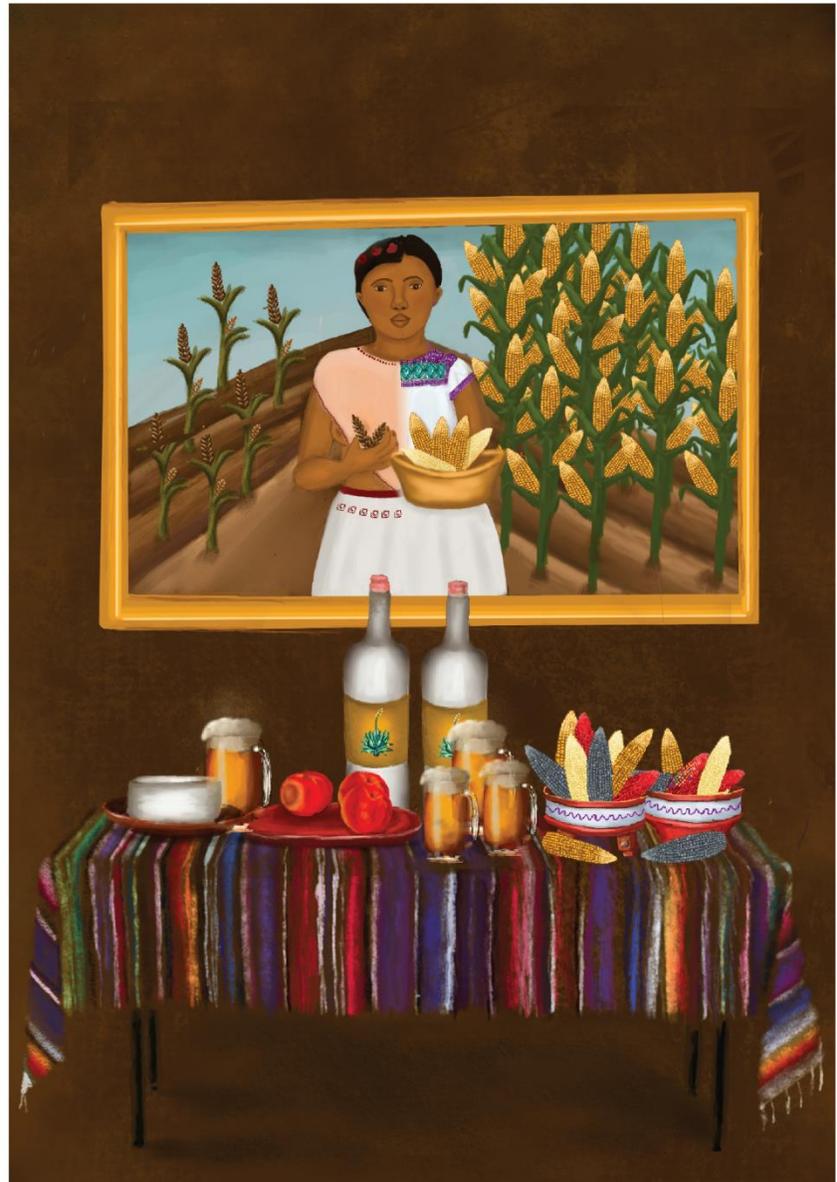


Tópico especial:
“Usos cotidianos de la biotecnología”



UAGro
Dirección de Investigación



Título de la obra: Del suelo a la mesa

*Autora: Brenda Giselle Escamilla Sánchez
(2022)*

Técnica: Digital (Procreate)

Tlamati Sabiduría

EDITORIAL

En la actualidad, la biotecnología es parte de nuestras vidas. Lo que comemos, lo que bebemos, con lo que nos curamos e, incluso, las nuevas energías, utilizan bioprocesos para obtener o generar de los organismos vivos lo que necesitamos en nuestra cotidianidad. Desde la antigüedad, la biotecnología ha permitido al ser humano incrementar los volúmenes de producción, mejorar las características nutricionales de sus productos vegetales y animales, así como mejorar las características sensoriales y organolépticas de los alimentos procesados. El desarrollo de estos bioprocesos ha tenido como resultado la mejora de la calidad de vida y el aseguramiento alimentario para las generaciones futuras.

En este número de Tlamati Sabiduría se presentan trabajos originales y revisiones científicas, dedicados al quehacer biotecnológico con aplicaciones cotidianas en el área agroalimentaria, la salud y el ambiente.

Dr. Carlos Ortuño Pineda

Comité Editorial

Editores Ejecutivos

Dr. José Alfredo Romero Olea. *Rector de la Universidad Autónoma de Guerrero.*

Dra. Berenice Illades Aguiar. *Directora General de Posgrado e Investigación.*

Dr. Crisólogo Dolores Flores. *Director de Posgrado*

Editor en jefe

Dr. Oscar Talavera Mendoza. *Director de Investigación*

Editores Asociados

Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Sergio Adrián Salgado Souto. *Escuela Superior de Ciencias de la Tierra. Ciencias de la tierra, Petrología, Isotopos estables y radiactivos, Geología económica y ambiental, Geoquímica, Contaminación por metales.*

Dr. José Luis Valenzuela Lagarda. *Centro Regional de Educación Superior de la Costa Chica. Ciencias agropecuarias, Producción sustentable, Tecnología de los alimentos, Aprovechamiento sustentable de los recursos agropecuarios, Alimentos nutraceuticos y funcionales, Ciencias biológicas, Biotecnología, Bebidas alimentarias.*

Dr. Gabino Solano Ramírez. *Instituto Internacional de Estudios Políticos Avanzados. Ciencias políticas, Relación ejecutivo-legislativo, Violencia, Manejo de conflictos, Estudios electorales, Partidos políticos.*

Dr. Neftalí García Castro. *Centro de Investigación y Posgrado en Estudios Socioterritoriales Chilpancingo. Vulnerabilidad Social y disparidades territoriales, Estructura territorial de la economía, Sustentabilidad social.*

Dr. José Luis Susano García. *Facultad de Comunicación y Mercadotecnia. Administración, Comunicación, Gestión empresarial, Negocios, Mercadotecnia, Sociología, Educación, Desarrollo regional, Turismo.*

Dr. Elías Hernández Castro. *Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Ciencias agropecuarias, Diseño y protección de agroecosistemas tropicales, Frutales, Agave, Gestión local.*

Dra. Teolincacihuatl Romero Rosales. *Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Ciencias agropecuarias, Inocuidad alimentaria, Agroecología, Biocontrol, Gestión local.*

Dra. Iris Paola Guzmán. *Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Inmunología, Genética, Epidemiología, Enfermedades crónicas, Enfermedades autoinmunes, Riesgo cardiovascular, Malnutrición, Investigación trasnacional.*

Dr. José Legorreta Soberanis. Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales. *Ciencias de la salud, Epidemiología, Planificación de la salud basada en evidencias, Salud de grupos vulnerables.*

Dr. Roberto Carlos Almazán Núñez. Facultad de Ciencias Químico Biológicas. *Fauna silvestre, Ecología de poblaciones y comunidades, Interacciones bióticas, Distribución de especies, Estudios florísticos, Conservación de la biodiversidad, Manejo de recursos naturales, Ecosistemas terrestres.*

Dr. José María Sigarreta Almira. Facultad de Matemáticas-Acapulco. *Matemática discreta, Matemática fraccional.*

Dra. Laura Sampedro Rosas. Centro de Ciencias del Desarrollo Regional. *Ciencias socioambientales, Educación ambiental.*

Dra. María del Socorro García González. Facultad de Matemáticas-Chilpancingo. *Educación matemática, Dominio afectivo en matemáticas, Formación de profesores de matemáticas.*

Dr. Jaime García Leyva. Centro Regional de Educación Superior de la Montaña. *Historia, identidad y pueblos indígenas, Salud y grupos vulnerables, Medicina indígena, Educación, Lenguas indígenas y migración, Desarrollo regional.*

Dr. Mark Kevin Speakman Darwin. Facultad de Turismo. *Gestión y desarrollo del turismo, Crisis y desastres turísticos, Turismo adaptativo, Turismo oscuro.*

Dra. Osbelia Alcaraz Morales. Facultad de Arquitectura. *Arquitectura y ciudades turísticas*

Dr. Jesús Guadalupe Padilla Serrato. Facultad de Ecología Marina. *Biología, Ecología marina y pesquera, Taxonomía de peces, Variabilidad ambiental oceánica, Recursos pesqueros, Modelación pesquera, Biodiversidad y ecología trófica, Ambientes marinos costeros.*

Dra. Elvia Garduño Téliz. Escuela Superior de Ciencias de la Educación. *TIC en educación, Tecnopedagogía, Personalización del aprendizaje, Aprendizaje móvil, Inclusión educativa, Evaluación educativa, Educación durante la contingencia.*

Dr. Gustavo Adolfo Alonso Silverio. Facultad de Ingeniería. *Sistemas electrónicos, sistemas inteligentes.*

Dr. José Gilberto Grimaldo Garza. Facultad de Derecho-Chilpancingo. *Derecho constitucional, Derecho animal, Derecho de la naturaleza.*

Dr. Adelaido Rafael Rojas García. Facultad de Veterinaria y Zootecnia No 2. *Producción de forrajes, Nutrición animal, Manejo de praderas.*

Dra. Mirna Azalea Romero Hernández. Facultad de Medicina. *Medicina general, Biología molecular y celular en medicina, Cáncer, Enfermedades del sistema inmunológico, Enfermedades crónico-degenerativas, Utilidad terapéutica de compuestos naturales, Autismo, Discriminación/inclusión en educación bioética, Dilemas del inicio y final de la vida, Atención primaria en la salud.*

Otras instituciones

Dr. José Francisco Muñoz Valle. Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara. *Ciencias biomédicas, Inmunología, Biología molecular, Genómica.*

Dr. José Luis Aguirre Noyola. Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México. *Microbiología, Ecología microbiana, Genómica, Bioinformática, Biorremediación, Biología de plantas.*

Dr. Yam Zul Ernesto Ocampo Díaz. Facultad de Ingeniería. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. *Ciencias de la tierra, Geología, Sedimentología, Petrología sedimentaria, Proveniencia, Tectónica.*

Dr. Rafael del Río Salas. Estación Regional del Noroeste, Universidad Nacional Autónoma de México. *Ciencias de la tierra, Geología, Geoquímica, Isótopos estables, Geología económica y ambiental, Contaminación por metales.*

Editores invitados

Dr. Carlos Ortuño Pineda. Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAGro.

Dra. Mayrut Osdely Urióstegui Acosta. Escuela Superior de Ciencias Naturales, UAGro

Revisores

Dra. Karen Cortés Sarabia Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAGro.

Dr. Gerardo Huerta Beristain Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAGro.

MC. Daysi Navez González Centro de Investigación Especializada en Microbiología, UAGro.

Dr. Erubiel Toledo Hernández Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAGro.

MC. Aurora Castillo Laguna Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAGro.

Dr. Eduardo Castañeda Saucedo Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAGro.

Comisión Editorial

Dr. Oscar Talavera Mendoza

Lic. Isabel Rivero Cors

MC. Jhonatan Pérez Cristino

Lic. María Magdalena López Ríos

Ing. Norberto Edwin Sandoval Maldonado

Corrección de estilo

Dr. Elinó Villanueva González

Tlamati Sabiduría, Año 15, Vol 15, es una revista electrónica de publicación cuatrimestral y acceso abierto (open access), editada por la Universidad Autónoma de Guerrero, Javier Méndez Aponte s/n, Col. Servidor Agrario, C.P. 39070, Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, + 52 733 471 93 10 (Ext. 3091), <http://tlamati.uagro.mx>, correo: tlamatisabiduria@uagro.mx. Editor en jefe: Dr. Oscar Talavera Mendoza. Comisión editorial de la Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma de Guerrero. Fecha de la última actualización: 20 de enero de 2023. Responsable de la última actualización de este volumen: Dr. Oscar Talavera Mendoza. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2019-120310025200-203, ISSN versión impresa 2007-2066, ambos otorgados por el Instituto Nacional de Derechos de Autor; ISSN versión electrónica (en trámite).

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor ni de la Universidad Autónoma de Guerrero. Se autoriza la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación para fines académicos siempre y cuando se cite la fuente completa.

Contenido

Tópico especial Usos cotidianos de la biotecnología

Valor biotecnológico de Moringa oleifera como mecanismo purificador en fuentes de agua de comunidades rurales

Laura Conde-Báez, Yorllet Jiménez-Pineda, Carlos Alejandro Sánchez-Muñoz, Alfredo Méndez-Bahena

Efecto de α -tocoferol y escualeno sobre la viabilidad y el estrés oxidativo de líneas celulares tumorales cervicales SiHa y no tumorales HaCaT

Merary Guadalupe Parra-Vargas, Brenda de la Cruz-Concepción, Ana Elvira Zacapala-Gómez, Napoleón Navarro-Tito, Mónica Espinoza-Rojo, Patricia Álvarez-Fitz, Carlos Ortuño-Pineda, Francisco Javier Camacho-Arroyo, Eduardo Castañeda-Saucedo, Miguel Ángel Mendoza-Catalán

Inocuidad microbiológica en hortalizas

María Guadalupe Beltrán-Palacios, Atenas Cortés-Martell, Fernanda Donaji Memije-Soto, Daniel Alexander Cástulo-Arcos, Arturo Ramírez-Peralta

Efecto antifúngico de extractos naturales

Mariela Cano-Ponce, Carlos Daniel Emilio-Navarrete, Jhonatan Hernández-Ortega, Janeth Vázquez-Rodríguez, Francisco Israel Torres-Rojas.

Biofertilizantes comercializados en México

Andrea Guadalupe Dionicio-Ocampo, Rubén Ricardo Nava-Franco, Angela Yaquelin Solís-López, Ketzalli Abigail Victoriano-Herrera, Alejandro Bolaños-Dircio, Yanet Romero-Ramírez

Argemone mexicana: una alternativa para el control de mosquitos vectores (Diptera: Culicidae) de importancia médica

Diana Monserrath Osorio-Palacios, Itzel Celic Evaristo-Ortiz, Cielma Jazmín Alfaro-Campos, Dalia Vanesa Ignacio-Díaz, Cinthia Moya-Álvarez, Rebeca Salazar-Dorantes, Erika Jaqueline de Jesús-Reyes, Leticia Lucena, César Sotelo-Leyva

Ayahuasca para principiantes: un estudio clínico en jóvenes

Reyna Cabañas-Martínez, Perla Selina Torreblanca-García, Salvador Muñoz-Barrios, Cecilia González-Calixto, Gabriel Alberto Cruz-Flores, Mercedes Calixto-Gálvez, José Daniel Anaya-Tacuba, Mirella Maruris-Reducindo, Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta.

Efecto de la infección por *Yersinia pseudotuberculosis* sobre la morfología, activación de Rac y RhoA de eritrocitos de ratón BALB/c

Jonathan Cisneros-Pano, Patricia Talamas-Rohana, Argelia Poblete-Mayo, Dulce Maria Vega-Rodríguez, Julia Flores de la Cruz, Donaciano Flores-Robles

Alimentos con potencial funcional en la prevención de obesidad, diabetes e hipertensión en la dieta mexicana: una revisión sistemática

Ana Isabel Alfaro-Figueroa, Javier Jiménez-Hernández, Ricardo Salazar, Yanik Ixchel Maldonado-Astudillo

Estandarización de una técnica básica para la síntesis de liposomas y encapsulamiento de proteínas recombinantes

Héctor Javier Lasso-Ávila, Jonás Lomberg-García, Ruth A.-Lezama, Irene Castillo-Álvarez, Miguel Ángel Mendoza-Catalán, Guillermo Jesús Balboa-Bueno, Luis Fernando Carbajal-Romero,, Carlos Ortuño-Pineda

Tlamati Sabiduría



Valor biotecnológico de *Moringa oleifera* como mecanismo purificador en fuentes de agua de comunidades rurales

Laura Conde-Báez¹
Yorlet Jiménez-Pineda^{1,2}
Carlos Alejandro Sánchez-Muñoz¹
Alfredo Méndez-Bahena^{1*}

¹Laboratorio de Biología de la Conservación, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Lázaro Cárdenas S/N, 39070, Ciudad Universitaria. Chilpancingo, Guerrero.

²Maestría en Recursos Naturales y Ecología, Facultad de Ecología Marina, Universidad Autónoma de Guerrero., Av. Gran Vía Tropical 20, 39390, Fracc. Las Playas, Acapulco, Guerrero.

*Autor de correspondencia
amendezbahena@gmail.com

Resumen

Las infecciones fecales-orales persisten en un contexto de alta vulnerabilidad, en donde las fuentes de abastecimiento de agua para consumo humano no son monitoreadas y no reciben tratamiento. El uso de insumos biológicos para el tratamiento de agua que permitan su purificación, que se puedan producir localmente ofrece diversas ventajas. Entre estas ventajas se encuentran, la reducción de costos, la disminución en la generación de subproductos, y una mayor biodegradabilidad, además de que no generan una dependencia tecnológica. Entre los principales desafíos que se perciben en el tratamiento de agua en comunidades rurales, está la eliminación de compuestos orgánicos e inorgánicos. En este sentido, *Moringa oleifera*, se caracteriza por ser un coagulante natural, resultado de la presencia de saponinas, flavonoides, esteroides, terpenoides, fenoles y triterpenoides en su estructura vegetal. Esto permite que las características de los extractos y de las muestras en sólido de *M. oleifera*, presenten actividad antibacteriana tanto para gramnegativos como para grampositivos, permitiendo la reducción de patógenos en agua para consumo

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Conde-Báez, L., Jiménez-Pineda, Y., Sánchez-Muñoz, C.A., Méndez-Bahena, A. (2023). Valor biotecnológico de *Moringa oleifera* como mecanismo purificador en fuentes de agua de comunidades rurales. *Tlamati Sabiduría*, 15, 7-12.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; Publicado: 29 de mayo 2023



humano. En consecuencia, esta contribución tiene como objetivo, promover el fortalecimiento de las instituciones comunitarias y los procesos de autogestión en comunidades rurales, haciendo accesible información de utilidad. El uso de coagulantes biológicos como *Moringa oleifera*, podría tener una aplicación que permita mejorar las características para el consumo humano contribuyendo al cumplimiento del Derecho Humano al Agua.

Palabras clave: Coagulantes naturales, Coloides hidrofóbicos, Actividad antimicrobiana

Abstract

Fecal-oral infections persist in a high context of vulnerability, where sources of water supply for human consumption (WHC) are not monitored and do not receive treatment. The use of biological inputs for water treatment that allow its purification, which can be produced locally, offers several advantages. Among these advantages are the reduction of cost, the decrease in the generation of subproducts, and a greater biodegradability, in technological dependency. Among the main challenges that are perceived in the treatment of water in rural communities, is the elimination of organic and inorganic compounds. In this sense, *Moringa oleifera* is characterized by being a natural coagulant, the result of the presence of saponins, flavonoids, steroids, terpenoids, phenols and triterpenoids that it presents in its vegetal structure. This allows the characteristics of the extracts and solid samples of *M. oleifera* to present antibacterial activity for both gram-negatives and gram-positives, allowing the reduction of pathogens in WHC. Consequently, this contribution aims to promote the strengthening of community institutions and self-management processes in rural communities, making useful information accessible. The use of biological coagulants such as *M. oleifera*, could have an application that allows to improve the characteristics for the WHC contributing to the fulfillment of the Human Right to Water.

Keywords: Natural coagulants, Hydrophobic colloids, Antimicrobial activity

Introducción

El acceso al agua para consumo humano es cada vez más limitado debido a la reducción en su disponibilidad y deterioro de su calidad. Se estima que más de 750 millones de personas a nivel mundial carecen de acceso al agua potable (Jensen *et al.*, 2002; Chaidez *et al.*, 2016). De acuerdo con la UNESCO, la rápida urbanización, la contaminación por actividades agrícolas e industriales, el uso de pesticidas, la disposición inadecuada de los desechos, entre otras actividades antropogénicas, han contribuido a la reducción en la calidad (Horn *et al.*, 2022). El resultado de estas actividades ha detonado en la generación de contaminantes tanto orgánicos (proteínas, carbohidratos, aminoácidos, etc.)

como inorgánicos (sulfatos, carbonatos, nitratos, metales, etc.) que afectan a cuerpos de agua, suelo y aire generando impactos al medio ambiente y a la salud humana (Shinomol *et al.*, 2016). En países en vías de desarrollo, es común que la falta de infraestructura que pudiera permitir la purificación del agua potable ocasione una dependencia sobre el consumo de fuentes de agua no tratada para beber (Chaidez *et al.*, 2016; Agunbiade *et al.*, 2021). La demanda, junto con la falta de infraestructura para el tratamiento, ha obligado a los consumidores a almacenar agua de fuentes no tratadas, como pozos, manantiales, agua de lluvia y aguas superficiales (Salles *et al.*, 2014).

El agua limpia, no solo es un recurso vital, sino es una manera de prevenir enfermedades

transmitidas por el agua (diarrea, cólera, disentería, hepatitis A y tifoidea) (Horn *et al.*, 2022). Para asegurar el suministro de agua, se requiere del uso de procesos de reciclaje que consideren aspectos técnicos, económicos, sociales y ecológicos (Lüthi *et al.*, 2011). Algunos de los procesos menos costosos para minimizar la contaminación microbiana incluyen la cloración, floculación, desinfección solar y filtración (Chaidez *et al.*, 2016). Entre estos métodos de purificación, la filtración ha demostrado ser uno de los métodos más efectivos para la eliminación de patógenos (Rice *et al.*, 2012). La coagulación y floculación son procesos fisicoquímicos, utilizados para la remoción de los contaminantes presentes en el agua utilizados en filtros naturales, filtros de arena y filtros orgánicos. Estos se clasifican en coagulantes inorgánicos, orgánicos sintéticos o polímeros orgánicos naturales (PON) (Villaseñor-Basulto *et al.*, 2018). Los PON han mostrado ser afines con el medio ambiente, de bajo costo y presentan una mayor biodegradabilidad. Entre estos PON, *Moringa oleifera* (Mo), ha sido reportada por tener en su estructura vegetal ácidos grasos como Omega 9 (76%) y ácidos grasos saturados (ácido palmítico, esteárico y araquídico) (Kayode *et al.*, 2015). Además de los ácidos grasos, presenta en su estructura saponinas, flavonoides, esteroides, terpenoides, fenoles y triterpenoides (Buthadaa *et al.*, 2015). *M. oleifera* como PON ha mostrado tener actividad ovicida y larvicida contra *Haemonchus contortus* (parásito de diferentes especies de ganado), las fracciones de saponinas y taninos presentes en *M. oleifera*, desestabilizan la membrana celular en el parásito, mientras que las semillas pueden reducir la motilidad de larvas en etapa infectiva (Cabardo *et al.*, 2017).

Además de la coagulación y floculación, la purificación del agua con *M. oleifera*, se ha llevado a cabo mediante procesos de adsorción, en columna empacada y por biosorción (Shinomol *et al.*, 2016; Villaseñor-Basulto *et al.*, 2018). Kansal *et al.* (2015) han reportado que la efectividad de *M. oleifera*, sobre el grado de la purificación del agua, debe considerar tres pasos principales: i) preparación de la harina; ii) extracto proteico; y, iii) purificación. *M. oleifera* ha sido utilizada en la remoción de colorantes

utilizados en la industria textil, en el tratamiento de efluentes del aceite de palma, en la industria láctea, la industria del concreto, en el tratamiento de agua doméstica y municipal, en la remoción de metales pesados, en aguas residuales de la industria ganadera y alimentaria, en la inhibición del crecimiento bacteriano, en la reducción de la turbidez, la salinidad, la remoción de sólidos disueltos totales, y en la clarificación del agua (Sandoval-Arreola y Laines-Canepa, 2013; Hernández-Bojorge *et al.*, 2016; Villaseñor-Basulto *et al.*, 2018; Bouchareb *et al.*, 2021; Khalfaoui *et al.*, 2022).

La eficiencia del proceso con *M. oleifera* está relacionada con el tamaño de la partícula (rango 1.2 nm a 1.5 nm). Esta característica reduce la presencia de algunos lípidos que están presentes en las semillas, teniendo mayor afinidad de adsorción para los sólidos en suspensión, contribuyendo a reducir la turbidez y el color aparente en el tratamiento de agua. Otro de los factores a considerar es el pH. Entre 9.6 y 10 se tienen propiedades antimicrobianas y de coagulación importantes, mientras que a pH muy bajo (e.g. 2.5), se pueden eliminar iones catiónicos como cromo (Cr^{+6}) y arsénico (As^{+5}) (Vilaseca *et al.*, 2014). La temperatura y la concentración de *M. oleifera* en sólido y en extracto, así como con el uso de disolventes (cloruro de sodio, cloruro de potasio, hidróxido de sodio), son factores determinantes en la purificación del agua (Sandoval-Arreola y Laines-Canepa, 2013; Villaseñor-Basulto *et al.*, 2018; Khalfaoui *et al.*, 2022).

El uso de soluciones salinas en la extracción dentro del proceso de purificación mejora las propiedades coagulantes en comparación con la extracción en agua, ya que las sales aumentan las fuerzas iónicas, lo que incrementa los principios activos y favorece el desprendimiento de las proteínas incrementando la solubilidad. Para el tratamiento de efluentes ganaderos con semilla de *M. oleifera*, se han obtenido resultados en la eliminación de la carga contaminante en un 64%, mientras que el tratamiento de aguas residuales porcinas, mostraron una remoción de coliformes totales y termotolerantes del 96 y 94 %, respectivamente.

En aguas residuales generadas por la industria láctea, se ha reportado una remoción de la carga contaminante del 50% con mayor efectividad en la remoción de color y turbidez (Maldini *et al.*, 2014). Se ha utilizado *M. oleifera* para el tratamiento de aguas residuales textiles, y en colorantes como rojo de metilo, cristal violeta, azul de metileno, rojo congo, reactivo azul 198, con remociones de alrededor del 90 % (Cabardo y Portugaliza, 2017). Respecto a la inhibición de microorganismos en agua de irrigación y en agua residual, se ha reportado una remoción de la turbidez del 96.8% y del 90%, respectivamente; mientras que la remoción de huevos de helminto reportada es del 90.5%. Hernández-Bojorge *et al.* (2016) reportaron una inhibición en el crecimiento de *Salmonella sp.* utilizando *M. oleifera*.

Respecto a la remoción de metales pesados, ésta varía dependiendo del tratamiento y del tipo de agua residual. En agua municipal, se ha reportado una remoción del 46% para plomo (Pb), del 30 % para cromo (Cr), 61 % para Zinc (Zn), 99% de cobre (Cu) y 71% para cobalto (Co). Shinomol *et al.* (2016) han reportado una remoción de metales pesados como Co, Cd, Cu, Zn, As y Hg, en cuerpos de agua, mostrando una remoción del 60 al 90% de estos metales. El uso de *M. oleifera*, a partir de los extractos de las hojas o de las semillas se puede utilizar en diferentes dosis, dependiendo del tipo de agua a tratar. Se ha reportado que, para la inhibición de microorganismos en depósitos y aguas superficiales, se podrían utilizar 1 000 mg de *M. oleifera* por cada litro de agua. Virk *et al.* (2019); Amanpreet *et al.* (2019) demostraron que el extracto acuoso de la semilla de *M. oleifera* presenta actividad antibacteriana contra bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* en la purificación del agua, en dosis de 100 mg por cada litro de agua. La remoción de colorantes, como el rojo de metilo, ha mostrado resultados satisfactorios en dosis de 0.5 a 4 g/L de Mo (Hernández-Bojorge *et al.*, 2016; Villaseñor-Basulto *et al.*, 2018).

Respecto de la reducción de la turbidez en aguas residuales y en aguas no tratadas (brutas), la dosis recomendada es de 140 mg y 500 mg de *M.*

oleifera por cada litro de agua, respectivamente (Peterniani *et al.*, 2009; Bouchareb *et al.*, 2021). Jagaba *et al.* (2021), también evaluó la remoción de metales (Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn) en aguas residuales a través del proceso coagulación y floculación, encontrando dosis óptimas de remoción de 4 000 mg/L de *M. oleifera*. Por otro lado, se ha reportado que la dosis para la remoción de metales pesados en cuerpos de agua (ríos y lagunas) principalmente de Cu, Cd y Fe, es de 10 000 mg/L con remociones del 98%, mientras que, para el tratamiento de efluentes ganaderos con semilla, se recomiendan 7 g por cada litro de agua (Shan *et al.*, 2017).

Respecto a los costos, el uso de ultrafiltros de alimentación por gravedad, de bajo costo para el tratamiento microbiano (e.g. LifeStraw Family 1.0) tienen un costo aproximado de USD \$90; mientras que *M. oleifera* a nivel comercial tiene un costo que oscila entre \$11 y \$44 USD. El ultrafiltro está diseñado para producir alrededor de 9 L/h de agua, con la capacidad de proporcionar agua tratada a una familia de 5 personas durante 3 años (Yin *et al.*, 2010; Kashaninejad *et al.*, 2021). Considerando los costos anteriores, el uso del ultrafiltro tendría un costo unitario por cada litro de agua de USD \$0.005; mientras que para *M. oleifera* se estimaría en USD \$0.002. Es importante resaltar que, en la revisión realizada, no se encontraron reportes de contraindicaciones para el uso de *M. oleifera* en agua para consumo humano.

Conclusiones

La revisión de literatura muestra que existen importantes antecedentes sobre el uso documentado de *M. oleifera* para la purificación de agua destinada a consumo humano. Las propiedades fisicoquímicas de los compuestos presentes en esta planta le confieren una alta eficiencia para la remoción de Cu, Cd, Zn, Co, As, Mg y Fe, para disminuir la turbidez, los sólidos suspendidos y la carga microbiológica. Aunque se trata de un árbol originario de Asia meridional, su potencial como complemento alimenticio y uso medicinal, popularizaron su consumo y extendieron su cultivo en amplias regiones de clima cálido húmedo y subhúmedo del país. La

literatura refiere que tanto la semilla, como la corteza y las hojas tienen potencial para la purificación de agua, lo cual aumenta el rendimiento de la planta. La facilidad para su cultivo en la mayor parte del estado de Guerrero hace al producto altamente accesible y de bajo costo, lo que, combinado con la facilidad para su aplicación, no genera dependencia tecnológica. Por lo anterior, se recomienda realizar pruebas a un nivel focalizado que permita extender su aplicación hacia un uso local, una vez que se hayan estandarizado las dosis y la forma de aplicación en las condiciones guerrerenses, dado que la planta muestra un alto potencial para contribuir a la disminución en diversas enfermedades de tipo gastrointestinal asociadas al consumo de agua que no reúne condiciones de potabilidad.

Referencias

- Agunbiade, O.J., Famutimi, O.G., Kadiri, F.A., Kolapo, O.A., Adewale, I.O. (2021). Studies on peoxidase from *Moringa oleifera* lam leaves. *Heliyon*, 7, e06032.
- Amanpreet, K.V., Chandresh, K., Astha, T., Apurva, K., Xiangkai, L., Saurabh, K. (2019). Development and efficacy analysis of a *Moringa oleifera* based potable water purification kit, *Journal of Water Process Engineering*, 37-46.
- Bhutada, P.R., Jadhav, A.J., Pinjari, D.V., Nemade, P.R., Jain, R.D. (2015). Solvent assisted extraction of oil from *Moringa oleifera* Lam, Seeds. *Industrial Crops and Products*, 82, 74-80.
- Bouchareb, R., Derbal, K., Benalia, A. (2021). Optimization of active coagulant agent extraction method from *Moringa oleifera* seeds for municipal wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 84, 393-403.
- Cabardo, D.E., Portugaliza, H.P. (2017). Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* seed aqueous and ethanolic extracts against *Haemonchus contortus* eggs and third stage larvae. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 5, 30-34.
- Chaidez, C., Ibarra-Rodríguez, J.R., Valdez-Torres, J.B., Soto, M, Gerba, C.P., Castro-del Campo, N. (2016). Point-of-use Unit Based on Gravity Ultrafiltration Removes Waterborne Gastrointestinal Pathogens from Untreated Water Sources in Rural Communities. *Wilderness & Environmental Medicine*. 27, 379–385.
- George, K.S., Revathi, K.B., Deepa, N., Sheregar, C.P., Ashwini, T.S., Das, S. (2016). A study on the potential of moringa leaf and bark extract in bioremediation of heavy metals from water collected from various lakes in Bangalore. *Procedia Environmental Sciences*, 35, 869-880.
- Hernández-Bojorge, S.H., Cawich, N.Z., Gómez-Lejarza, M., González-Moncada, C. (2017). Eficacia de la semilla de *Moringa oleifera* en el aclaramiento del agua. *Universidad y Ciencia*, 9(14), 31–44.
- Horn, L., Shakela, N., Mutorwa, M.K., Naomab, E., Kwaambwa, H.M (2022). *Moringa oleifera* as a sustainable climate-smart solution to nutrition, disease prevention, and water treatment challenges: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*. 10, 100397.
- Jagaba, A.H., Kutty, S.R.M., Hayder, G., Baloo, L., Ghaleb, A.A.S., Lawal, I.M., Abubakar, S., Al-dhawi, B.N.S., Almabashi, N.M.Y., Umaru I. (2021). Degradation of Cd, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn, by *Moringa-oleifera*, zeolite, ferric-chloride, chitosan and alum in an industrial effluent. *Ain Shams Engineering Journal*. 12, 57-64.
- Jensen, P.K., Ensink, J.H.J., Jayasinghe, G., Van Der H.W., Cairncross, S., Dalsgaard, A. (2002). Domestic transmission routes of pathogens: the problem of in-house contamination of drinking water during storage in developing countries. *Trop Med Int Health*. 7, 604–609.
- Kansal, S.K., Kumari, A. (2015). Potential of *M. oleifera* for the Treatment of Water and Wastewater. *Chemical Reviews*, 114, 4993-5010.
- Kayode, R.M.O., Afolayan, A.J. (2015). Cytotoxicity and effect of extraction methods on the chemical composition of essential oils of *Moringa oleifera* seeds. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 16, 680-689.
- Kashaninejad, M., Blanco, B., Benito-Román, O., Beltrán, S., S. Niknam, S.M., Sanz, M.T. (2021). Maximizing the freeze-dried extract yield by

- considering the solvent retention index: Extraction kinetics and characterization of *Moringa oleifera* leaves extracts. *Food and Bioproducts Processing*, 130, 132-142.
- Khalfaoui, A., Bouchareb, E.M., Derbal, K., Boukhaloua, S., Chahbouni, B., Bouchareb, R. (2022). Uptake of Methyl Red dye from aqueous solution using activated carbons prepared from *Moringa Oleifera* shells. *Cleaner Chemical Engineering*. 100069.
- Lüthi, C., Panesar, A., Schütze, T., Norström, A., Mcconville, J., Parkinson, J., Saywell, D., Ingle, R. (2011). *Sustainable Sanitation in Cities: A Framework for Action*, Papiroz Publishing House, Rijswijk, The Netherlands.
- Maldini, M., Maksoud, S.A., Natella, F., Montoro, P., Petretto, G.L., Foddai, M., De Nicola, G.R., Chessa, M., Pintore, G. (2014). *Moringa oleifera*: study of phenolics and glucosinolates by mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 49, 900–910.
- Shan, T.C., Matar, M.A., Makky, E.A., Ali, E.N. (2017). The use of *Moringa oleifera* seed as a natural coagulant for wastewater treatment and heavy metals removal. *Applied Water Science*, 7, 1369–1376.
- Peterniani, J.E.S., Mantovani, M.C, Sant’Anna, M.R. (2009). Uso de sementes de *Moringa oleifera* para tratamento de águas superficiais. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 13, 765-771.
- Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D., Clesceri, L.S., eds. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22nd ed. Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. [Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, 23rd Edition \(wef.org\)](https://www.wef.org/).
- Salles, H.O, Linhares-Braga, A.C, dos Santos-Canuto do Nascimento, M.T., Paiva-Sousa, A.M., Rodrigues-Lima, A.R., da Silva-Vieira, L, Rocha-Cavalcante, A.C, do Egito, A.S., da Silva-Andrade, L.B. (2014). Lectin, hemolysin and protease inhibitors in seed fractions with ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 23,136-143.
- Sandoval-Arreola, M.M., Laines-Canepa, J.R. (2013). *Moringa oleifera* una alternativa para sustituir coagulantes metálicos en el tratamiento de aguas superficiales. *Ingeniería* 17(2), 93-101.
- Vilaseca, M., López-Grimau, V., Gutiérrez-Bouzán, C. (2014). Valorization of waste obtained from oil extraction in *Moringa oleifera* seeds: coagulation of reactive dyes in textile effluents. *Materials (Basel)*, 7, 6569-6584.
- Villaseñor-Basulto, D.L., Astudillo-Sánchez, P.D., del Real-Olvera, J., Bandala, E.R. (2018). Wastewater treatment using *Moringa oleifera* Lam seeds: A review. *Journal of Water Process Engineering*, 23, 151-164.
- Virk, A.K., Kumari, C., Tripathi, A., Kakade, A., Li, X., Kulshrestha, S. (2019). Development and efficacy analysis of a *Moringa oleifera* based potable water purification kit. *Journal of Water Process Engineering*, 27, 37-46.
- Yin, C.Y. (2010). Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment. *Process biochemistry*, 45, 1437-1444.

Tlamati Sabiduría



Efecto de α -tocoferol y escualeno sobre la viabilidad y el estrés oxidativo de líneas celulares tumorales cervicales SiHa y no tumorales HaCaT

Merary Guadalupe Parra-Vargas¹
Brenda De la Cruz-Concepción¹
Ana Elvira Zacapala-Gómez¹
Napoleón Navarro-Tito¹
Mónica Espinoza-Rojo¹
Patricia Álvarez-Fitz¹
Carlos Ortuño-Pineda¹
Francisco Javier Camacho-Arroyo²
César Sotelo-Leyva¹
Eduardo Castañeda-Saucedo¹
Miguel Angel Mendoza-Catalán^{1*}

¹Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero. Ciudad Universitaria, Chilpancingo, Guerrero, México.

²Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional. San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero, 07360 Ciudad de México, CDMX.

*Autor de correspondencia
mamendoza@uagro.mx

Resumen

El estrés oxidativo provoca daño a biomoléculas y favorece el desarrollo y progresión de enfermedades, como el cáncer. En estudios previos, el extracto acetónico de hojas de *Ficus crocata*, mostró actividad antioxidante en células no tumorales, mientras que indujo citotoxicidad en células tumorales, siendo

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Parra-Vargas, M.G., De la Cruz-Concepción, B., Zacapala-Gómez, A.E., Navarro-Tito, N., Espinoza-Rojo, M., Álvarez-Fitz, P., Ortuño-Pineda, C., Camacho-Arroyo, F.J., Sotelo-Leyva, C., Castañeda-Saucedo, E., Mendoza-Catalán, M.A. (2023). Efecto de α -tocoferol y escualeno sobre la viabilidad y el estrés oxidativo de líneas celulares tumorales cervicales SiHa y no tumorales HaCaT. *Tlamati Sabiduría*, 15, 13-27.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; Publicado: 13 de junio 2023



α -tocoferol y escualeno los compuestos de mayor abundancia. *Objetivo:* Evaluar el efecto de α -tocoferol y escualeno sobre la viabilidad y el nivel de estrés oxidativo en células no tumorales HaCaT y células tumorales cervicales SiHa. *Materiales y métodos:* Se determinó la concentración inhibitoria media contra los radicales DPPH y ABTS⁺; mediante el ensayo MTT se evaluó la viabilidad de las células HaCaT y SiHa y se determinaron los niveles de malondialdehído (MDA) para evaluar la lipoperoxidación. *Resultados:* α -Tocoferol mostró actividad inhibitoria para ambos radicales (CI₅₀ DPPH= 1,015.27 μ g/mL, CI₅₀ ABTS= 261.62 μ g/mL), mientras que escualeno no presentó actividad antiradical por sí solo, sin embargo, la actividad antiradical de α -tocoferol aumentó >10% cuando se combinó con escualeno. La exposición a los compuestos disminuyó el porcentaje de células SiHa viables (23.7 % respecto del control), en contraste, el porcentaje de células HaCaT viables no disminuyó. El tratamiento con escualeno disminuyó el daño oxidativo inducido por H₂O₂ en células SiHa (30-60%) y HaCaT (100-180%), mostrando actividad antioxidante en ambas líneas celulares, sin embargo, el tratamiento con α -tocoferol favoreció el daño oxidativo inducido por H₂O₂ en células SiHa (>200% adicional), mientras que disminuyó el nivel de MDA en células HaCaT. *Conclusiones:* α -tocoferol inhibe a los radicales DPPH y ABTS⁺; escualeno sinergiza con α -tocoferol para mejorar su actividad antioxidante. El tratamiento con α -tocoferol y escualeno mostró un efecto citotóxico en células tumorales SiHa, sin afectar a las células no tumorales HaCaT. Finalmente, α -tocoferol mostró actividad antioxidante en células no tumorales HaCaT y un efecto prooxidante en células tumorales SiHa.

Palabras clave: α -tocoferol, escualeno, DPPH, ABTS⁺, MDA, HaCaT, SiHa.

Abstract

Oxidative stress causes damage to biomolecules and can stimulate the development and progression of diseases such as cancer. It has been shown that some compounds with antioxidant activity in non-tumor cells can have a cytotoxic effect on tumor cells. In previous studies, the acetone extract from *Ficus crocata* leaves showed this behavior, being α -tocopherol and squalene the most abundant compounds. *Objective:* To evaluate the effect of exposure to α -tocopherol and squalene on the viability and level of oxidative stress in non-tumorigenic HaCaT and cervical SiHa tumor cells. *Materials and methods:* Mean inhibitory concentration of α -tocopherol and squalene against DPPH and ABTS⁺ radicals were determined. The viability of HaCaT and SiHa cells was determined using MTT assays. Malondialdehyde (MDA) levels were determined to assess lipoperoxidation. *Results:* α -tocopherol showed inhibitory activity for both radicals (IC₅₀ DPPH= 1,015.27 μ g/mL, IC₅₀ ABTS⁺ = 261.62 μ g/mL), while squalene did not show antiradical activity alone; however, the antiradical activity of α -tocopherol increased by more than 10% when the compounds were combined. Exposure to the compounds decreased the percent of SiHa cells (23.7 % concerning the control); in contrast, the percent of viable HaCaT cells did not reduce (remained above 100%). Treatment with squalene decreased (SiHa: between 30 and 60%, HaCaT: between 100 and 180%) H₂O₂-induced oxidative damage, showing antioxidant activity in both cell lines; however, treatment with α -tocopherol favored H₂O₂-induced oxidative damage in SiHa cells (up to 200 % more), while it decreased the level of MDA in HaCaT cells. *Conclusions:* α -tocopherol inhibits DPPH and ABTS⁺ radicals; squalene synergizes with α -tocopherol to enhance its antioxidant activity. Treatment with α -tocopherol and squalene showed a moderate cytotoxic effect on SiHa tumor cells without affecting HaCaT non-tumor cells. Finally, α -tocopherol showed antioxidant activity in HaCaT non-tumor cells and a pro-oxidant effect in SiHa tumor cells.

Keywords: α -tocopherol, squalene, DPPH, ABTS⁺, MDA, HaCaT, SiHa.

Introducción

El término estrés oxidativo (OS por sus siglas en inglés), puede describirse como un desequilibrio entre moléculas oxidantes y enzimas antioxidantes, a favor de los oxidantes, lo que conduce a una interrupción de la señalización redox y el control o daño molecular (Sies H., 2018). El OS ocurre cuando la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) en el cuerpo excede la capacidad de las células para neutralizarlas y eliminarlas, por medio de un par de maquinarias antioxidantes: componentes enzimáticos y compuestos no enzimáticos de bajo peso molecular (Li *et al.*, 2018; Katerji *et al.*, 2019).

Los oxidantes son moléculas que contienen oxígeno (ROS) o nitrógeno (especies reactivas de nitrógeno, RNS por sus siglas en inglés), pero son las ROS las más estudiadas (Sies H., 2018). Los niveles basales de ROS están involucrados en la activación de la proliferación celular, supervivencia, diferenciación, motilidad y vías sensibles al estrés, mientras que el aumento de los niveles de ROS puede inducir daño oxidativo a ácidos nucleicos, lípidos y proteínas (Prasad *et al.*, 2017; Chikara, *et al.*, 2018). Si bien este daño ocasionado por las ROS afecta a la mayoría de los tipos de biomoléculas, la aparición de oxidación en los lípidos (peroxidación lipídica, LPO por sus siglas en inglés) provoca la degradación de la bicapa lipídica que compone las membranas celulares, favoreciendo el desarrollo de estados patológicos que incluyen inflamación, cáncer, enfermedades neurodegenerativas, así como degeneración ocular y renal (Gaschler y Stockwell, 2017; Agmon y Stockwell, 2017).

Existe suficiente evidencia de que las ROS pueden promover o suprimir la supervivencia de las células cancerosas debido a que están implicadas en todos y cada uno de los pasos del desarrollo del tumor, incluida la transformación celular, supervivencia, proliferación, invasión, metástasis y angiogénesis. Las ROS afectan a moléculas de señalización necesarias para la progresión del ciclo celular y la expresión de varios genes supresores de tumores, respectivamente, regulando la inflamación crónica como uno de los principales mediadores del cáncer, por medio de distintas vías de

señalización como, MAPK, VEGF / VEGFR, MMP y PTEN (Wang *et al.*, 2019; Aggarwal *et al.*, 2019). La mayoría de los agentes quimioterapéuticos y radioterapéuticos disponibles actualmente, inducen la muerte de las células cancerosas al aumentar el nivel de ROS y por lo tanto induciendo estrés oxidativo (Prasad *et al.*, 2016).

En relación con el cáncer cervicouterino (CaCU), que es provocado principalmente por el Virus del Papiloma Humano (VPH), se ha observado una elevada expresión de SOD2, la enzima encargada de la regulación redox, debido a que el estrés oxidativo se asocia a la infección persistente por el VPH, que a su vez provoca cambios en la expresión y función de las enzimas antioxidantes (Termini *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2018).

Los organismos aerobios poseen sistemas de defensa antioxidante con la finalidad de disminuir el daño ocasionado por los radicales libres, incluyendo enzimas y secuestradores químicos llamados antioxidantes, moléculas que sintetiza el organismo de manera natural o que se pueden adquirir en la dieta, pues se encuentran presentes en los alimentos (Jamanca-González y Alfaro-Cruz, 2017; Sánchez-Valle y Méndez-Sánchez, 2018).

La función de los antioxidantes consiste en inactivar radicales libres, o bien, oxidándose ellos mismos para inhibir otras reacciones de oxidación. Por esta razón, los antioxidantes a menudo resultan ser agentes reductores tales como tioles o polifenoles (Jamanca-González y Alfaro-Cruz, 2017). Un ejemplo de un antioxidante muy común es la vitamina C, que, al ser aplicada sobre la piel, cumple con una función de protección contra la radiación UV, un tipo de radiación no ionizante solar, debido a que los queratinocitos pueden acumular este compuesto y promover la expresión de las enzimas antioxidantes (Pullar *et al.*, 2017). La capacidad antioxidante de las plantas, se atribuye a los compuestos fenólicos presentes que cuentan con una estructura química con grupos hidroxilo, los cuales actúan como moléculas antioxidantes primarias en el inicio o en la terminación del proceso oxidativo (Chen *et al.*, 2013). Por ejemplo, los compuestos fenólicos pueden actuar como antioxidantes, inhibiendo radicales libres

debido a su capacidad de transferir un átomo de hidrógeno a una especie radical (Malig *et al.*, 2017). Dentro del género *Ficus*, existe una gran variedad de especies que se ha reportado tienen actividad antiinflamatoria, antioxidante, antibacteriana, analgésica, entre otras (Abusufyan *et al.*, 2018). En algunas especies de *Ficus*, como son, *F. ingens*, *F. cordata* y *F. palmata*, se ha logrado identificar el contenido polifenólico que favorece a un efecto protector contra el estrés oxidativo (Al-Musayeib, *et al.*, 2017). En un estudio reciente realizado por el grupo de trabajo del Laboratorio de Biomedicina Molecular de la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro), se observó que los extractos de hojas de *Ficus crocata* mostraron un efecto citotóxico en células de cáncer de mama MDA-MB-231 y células de cáncer cervical HeLa y SiHa (Sánchez-Valdeolivar *et al.*, 2020; De La Cruz-Concepción *et al.*, 2021). Además, se observó que el extracto acetónico de hojas de *F. crocata* (EAFc) posee actividad antioxidante y mostró un efecto protector sobre el daño oxidativo en las células no tumorales HaCaT, evitando la lipoperoxidación y citotoxicidad inducida por peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Cabe destacar que, en la caracterización fitoquímica del extracto, los metabolitos que se encontraron en mayor concentración fueron α -tocoferol y escualeno (De la Cruz-Concepción *et al.*, 2021), dos metabolitos considerados antioxidantes.

El α -tocoferol (α T) representa la forma principal de vitamina E en los tejidos y es un lípido esencial para los eucariotas superiores, dentro de la naturaleza puede presentarse como ocho análogos; tocoferoles y tocotrienoles, en formas α -, β -, γ - y δ -, sin embargo, solo el α T alcanza niveles plasmáticos altos y es considerado esencial, actuando como un antioxidante químico al prevenir la peroxidación lipídica (Jiang, 2014; Galli *et al.*, 2017; Azzi, 2018). Se ha reportado que la Vitamina E afecta la actividad de los receptores y las enzimas involucradas en la regulación de la expresión de genes asociados a reacciones de óxido reducción (Zingg, 2019). Por otra parte, se sabe que la Vitamina E puede participar en la prevención del cáncer de distintas maneras, tanto a nivel nutricional como a nivel molecular. Las bases moleculares del mecanismo de acción de la Vitamina E radican en su actividad

antioxidante, además de la unión directa a moléculas blanco, importantes en el desarrollo tumoral (Azzi, 2018). Se ha reportado que distintas formas de Vitamina E disminuyeron la proliferación e indujeron apoptosis en células de carcinoma escamoso oral (Sylvester *et al.*, 2014; Zulkapli *et al.*, 2017). En eritrocitos tratados con α T, se ha observado actividad contra la lipoperoxidación ocasionada por radicales hidroxilo (OH), sin afectar a los iones férricos presentes en la fase acuosa (Fernandes *et al.*, 2013) además de que, la ingesta de Vitamina E y su nivel en sangre, está relacionada con un menor riesgo de neoplasia cervical (Hu *et al.*, 2017).

El escualeno (Sq) es un metabolito clave en la vía de los esteroides y es fundamental en la regulación de la fisiología celular en organismos eucariotas, además, es de los componentes principales presentes en las grasas, en conjunto con los triglicéridos y los ésteres. Varios estudios indican un papel dual del compuesto ligado principalmente a su estructura química: la posible implicación de Sq en la respuesta celular antioxidante y, por otro lado, su posible contribución en la exacerbación de los efectos perjudiciales de las enfermedades asociadas a estrés oxidativo (Micera *et al.*, 2020). En lípidos de la superficie de piel humana se observó que escualeno puede participar en diferentes mecanismos de oxidación, como el singlete de oxígeno y oxidación de radicales libres, generando distintos isómeros de monohidroperóxido de Sq (SQOOH) que pueden ser útiles para predecir mecanismos de oxidación en varias muestras, lo que podría ser útil para el estudio y prevención de enfermedades de la piel y deterioro de alimentos a través de la regulación de la oxidación del escualeno (Shimizu *et al.*, 2019). En cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas se han determinado elevados los niveles de prenilación de las proteínas (adición de moléculas hidrofóbicas a una proteína) y se ha visto también que están relacionadas con la biosíntesis de dos isoprenoides en particular, el pirofosfato de farnesilo y pirofosfato de geranilgeranilo junto con Sq como un metabolito río abajo de ambos compuestos, por lo tanto, la biosíntesis de Sq se ha sugerido como una potencial estrategia terapéutica (Park *et al.*, 2014). Sq actúa como metabolito intermediario en la

biosíntesis del colesterol, y sus propiedades han sido estudiadas en diversos tipos de líneas celulares tumorales, en donde se ha reportado la inhibición de la proliferación, invasión y metástasis tras el knockout de la enzima escualeno epoxidasa, que es la enzima encargada de metabolizar al Sq y se ha considerado recientemente como un oncogén (Qin *et al.*, 2017; Cirmena *et al.*, 2018; Mahoney *et al.*, 2019). Considerando que en un estudio previo α T y Sq fueron los compuestos más abundantes en el extracto de *F. crocata*, que mostró un efecto citotóxico contra células tumorales y un efecto protector en células no tumorales, la intención de este estudio fue evaluar el efecto de los compuestos puros α T y Sq sobre la viabilidad y el nivel de estrés oxidativo en células tumorales SiHa y no tumorales HaCaT. Este estudio aporta información sobre el posible uso de estos compuestos como terapia complementaria contra cáncer, y su papel como antioxidantes en células no tumorales.

Materiales y métodos

Ensayo de actividad antiradical (DPPH y ABTS+)

Se realizaron diluciones dobles seriadas de los compuestos α T y Sq a concentraciones de 50 a 800 μ g/mL en placas de 96 pozos. Para las combinaciones de los compuestos, se realizaron diluciones seriadas de α T a concentraciones de 12.5 a 100 μ g/mL y se añadieron 50 μ g/mL de Sq. Se agregaron 150 μ L de la solución de DPPH y ABTS⁺, por separado. Las placas se dejaron en incubación por 30 min., en oscuridad y a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, la lectura de la absorbancia se realizó en un lector de microplacas (Star Fax 2100, Awareness Technologies), para DPPH a 545 nm y para ABTS⁺ a 734 nm. El ácido ascórbico fue utilizado como antioxidante estándar como control positivo, mientras que, para el control negativo, se utilizaron solo los radicales (De la Cruz-Concepción *et al.*, 2021).

Los valores de las absorbancias, fueron utilizados para determinar el porcentaje de inhibición de los radicales y se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \left(1 - \frac{Ab \text{ muestra}}{Ab \text{ control}}\right) \times 100$$

Donde Ab representa la absorbancia de las muestras.

La concentración inhibitoria (CI₅₀) de ambos radicales se determinó por medio de una regresión lineal (Y= mX + b) en el programa Graphpad prism v6.0 (De la Cruz-Concepción *et al.*, 2021).

Cultivo de células

Las células HaCaT (no tumorales) y SiHa (tumorales cervicales, VPH-16+), fueron cultivadas en medio DMEM/F12 enriquecido con 10% de SFB y 1% de A/A a 37° C en una atmósfera de 5% de CO₂ hasta una confluencia del 80%. Posteriormente, las células fueron cosechadas y sembradas en las condiciones adecuadas para cada determinación.

Ensayo MTT

Se sembraron 5x10³ células HaCaT y SiHa en placas de 96 pocillos con medio DMEM/F12 con 10% de SFB durante 24 h. Posteriormente, las células fueron tratadas con α T y Sq 25-1000 μ g/mL diluidos en medio DMEM/F12 5% SFB durante 24 y 48 h. Las combinaciones de los compuestos se realizaron colocando 50-1000 μ g/mL de α T más 50 μ g/mL de Sq. Transcurrido el tiempo, se agregaron 100 μ L de reactivo MTT 10% y se incubaron durante 4 h para permitir la formación de cristales de formazán, posteriormente se añadió isopropanol (0.04 N) para disolver los cristales. La absorbancia se leyó a 545 nm en un lector de placas ELISA y fue proporcional al número de células viables (De la Cruz-Concepción *et al.*, 2021). El porcentaje de viabilidad celular fue determinado con la siguiente fórmula:

$$\text{Células viables} = \left(\frac{Ab \text{ muestra}}{Ab \text{ control}}\right) \times 100$$

Como control (vehículo), las células fueron tratadas con el diluyente de los compuestos (DMSO <1%); como control positivo las células fueron expuestas a Cisplatino (100 μ M) para inducir muerte celular; como control negativo, las células se trataron con medio DMEM/F12 10% SFB, para favorecer la proliferación celular.

Determinación de estrés oxidativo/lipoperoxidación (malondialdehído)

Se sembraron 1×10^5 células HaCaT y SiHa en placas de 6 pozos, hasta una confluencia del 80%, posteriormente se desechó el medio de cultivo y se realizó un pretratamiento con los compuestos α T, Sq y sus combinaciones durante 24h. Para las células tumorales SiHa, las concentraciones fueron las siguientes: α T (200 μ g/mL), Sq (400 μ g/mL), una combinación de (400 μ g/mL), para las células HaCaT: α T (200 μ g/mL), Sq (50 μ g/mL), y la combinación (400 μ g/mL) diluidos en medio DMEM/F12 5% SFB. Transcurrido el tiempo de los tratamientos, se añadió H_2O_2 (0.1 M) durante 2 h. Las células fueron tripsinizadas y se resuspendieron en 70 μ L de Tris-HCl y se homogenizaron en vórtex por 1 min. Se mezclaron 50 μ L del sobrenadante y 50 μ L de Tris-HCl, 325 μ L de reactivo MPI [10 mM] y 100 μ L de HCl [37%], se agitaron y se incubaron por 40 min a 45°C, se centrifugaron a 7000 rpm durante 10 min. Se tomó el sobrenadante y se realizó la lectura de la absorbancia a 586 nm (NanoDrop 2000C). El porcentaje de MDA se calculó con la siguiente fórmula (De la Cruz-Concepción *et al.*, 2021):

$$\% = \frac{AbMDA \text{ gpo trat}/Prot \text{ tot gpo trat}}{AbMDA \text{ control}/Prot \text{ tot gpo cont}} \times 100$$

Donde AbMDA representa la absorbancia de cada una de las muestras de MDA; grp trat = grupo tratado; Prot tot gpo trat = Proteína total grupo tratado; Prot tot gpo cont = Proteína total grupo control.

La normalización de los datos de cada muestra se determinó por medio del ensayo de Bradford. En tubos Eppendorf, se colocaron 1, 2, 4, 6, 8 y 10 μ L de BSA y 49, 48, 44, 42 y 40 μ L de agua Milli Q, respectivamente. A todos los tubos se les agregaron 450 μ L del reactivo de Bradford. La lectura de absorbancia se obtuvo a 595/750 nm (NanoDrop 2000C).

Análisis estadístico

Se utilizó el software GraphPad Prism 6.0 para la captura y el análisis de datos. Para la evaluación de las diferencias entre los grupos de datos respecto del control, se utilizó la prueba de ANOVA de una vía, y la prueba de comparación

múltiple de Dunnett; los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos. La CI_{50} para viabilidad celular y actividad antiradical fue calculada usando regresión lineal y la ecuación de la recta ($y = mx + b$).

Resultados

α T y Sq sinergizan mostrando una mayor actividad antiradical

Para conocer la actividad antiradical de los compuestos, se utilizaron los radicales libres DPPH y ABTS⁺. α T mostró actividad inhibitoria sobre los radicales DPPH y ABTS⁺ de manera dependiente a la concentración (Figura 1). Para el DPPH (Figura 1A), el porcentaje de inhibición aumentó notoriamente a partir de 400 μ g/mL.

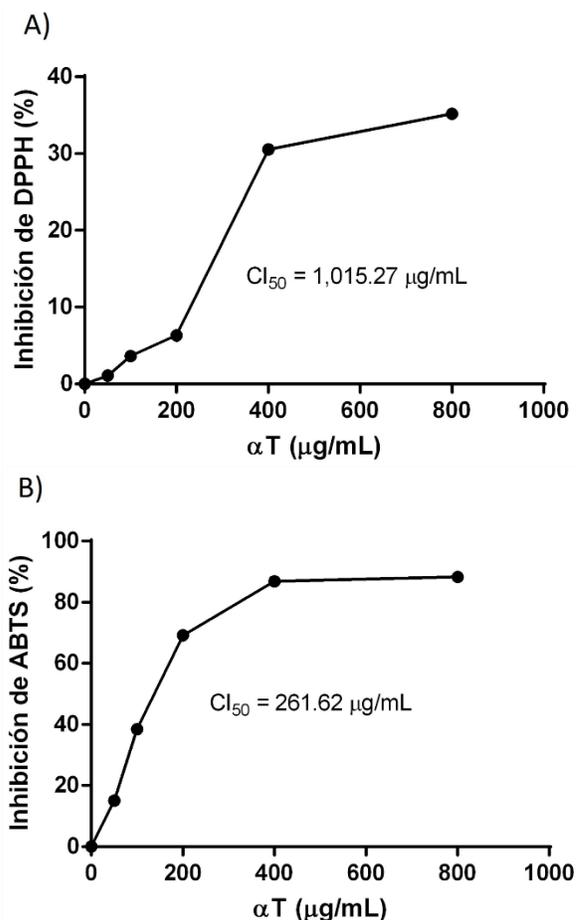


Figura 1. Efecto de inhibición sobre los radicales libres por α T. A): radical DPPH; B): radical ABTS⁺.

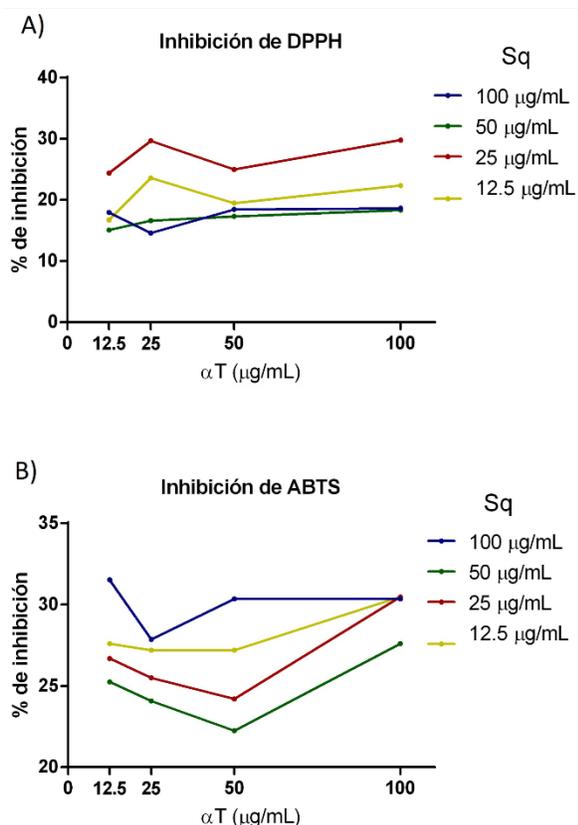


Figura 2. Actividad antiradical de combinaciones de αT y Sq. A): radical DPPH; B): radical ABTS⁺.

alcanzando un 30% de inhibición, mientras que para el ABTS⁺ se observó un 15% de inhibición desde 50 $\mu g/mL$ y fue aumentando de forma dependiente a la concentración hasta un 88% (Figura 1B). La CI_{50} de αT para el DPPH fue de 1,015.27 $\mu g/mL$, mientras que para el ABTS⁺ de 261.62 $\mu g/mL$. En contraste, Sq no mostró actividad antiradical en ninguna de las concentraciones analizadas.

Adicionalmente, se realizaron combinaciones de los compuestos αT y Sq en concentraciones de 12.5, 25, 50 y 100 $\mu g/mL$, con la técnica de tablero de ajedrez. Interesantemente, la combinación de los compuestos mostró una mayor actividad inhibitoria para ambos radicales (Figura 2); αT tuvo un porcentaje de inhibición para el DPPH de 1 y 3% con concentraciones de 50 y 100 $\mu g/mL$, respectivamente, este porcentaje aumentó hasta los 17.4% y 18.7% tras combinarlo con Sq (Figura 2A). En el caso del ABTS⁺, αT individualmente, mostró una actividad inhibitoria

mayor en comparación con la combinación con Sq. Sin embargo, en las combinaciones de concentraciones menores a 50 $\mu g/mL$ de αT el porcentaje de inhibición fue mayor (Figura 2B). Se obtuvo un porcentaje de inhibición de ABTS⁺ de 27.6 %, 25.5 % y 22.3 % con 12.5 $\mu g/mL$, 25 $\mu g/mL$ y 50 $\mu g/mL$ de αT , respectivamente, en combinación con 50 $\mu g/mL$ de Sq. Con la combinación de los compuestos, el porcentaje de inhibición para ambos radicales aumentó más del 10%, lo que se puede interpretar como un efecto sinérgico entre αT y Sq.

αT y Sq disminuyen la proliferación de células tumorales SiHa

Se determinó el porcentaje de viabilidad en células HaCaT y SiHa después de haber sido tratadas con distintas concentraciones de αT y Sq (25-1000 $\mu g/mL$) y sus combinaciones (50-800 $\mu g/mL$) en tiempos de exposición de 24 y 48 h. En las células tumorales SiHa, los compuestos αT , Sq y su combinación, disminuyeron alrededor de un 20% el número de células viables. En los tratamientos por 24 h, las concentraciones que mostraron un efecto citotóxico fueron αT 25-50 $\mu g/mL$ (Figura 3A), Sq 25-400 $\mu g/mL$ (Figura 3C) y la combinación $\alpha T/Sq$ 800/50 $\mu g/mL$ (Figura 3D). Para los tratamientos por 48 h, solamente el tratamiento con Sq 400-1000 $\mu g/mL$ (Figura 3D) y αT 12.5 $\mu g/mL$ mantuvieron el número de células SiHa viables alrededor del 80%.

En contraste, en las células no tumorales HaCaT, no se observó efecto citotóxico del tratamiento con los compuestos independientes ni su combinación, incluso algunas condiciones de tratamiento aumentaron el porcentaje de células viables en comparación con las células sin tratamiento (V), principalmente a 24 h: αT 50, 400 y 800 $\mu g/mL$ (Figura 4A), así como la combinación de estas últimas dos concentraciones con 50 $\mu g/mL$ de Sq (Figura 4E), además de Sq 25 $\mu g/mL$ (Figura 4C). En 48 h de tratamiento, sólo las concentraciones de 100 y 200 $\mu g/mL$ de Sq, mostraron un mayor porcentaje de células viables en comparación con el control (Figura 4D), el resto de los tratamientos no mostró diferencias estadísticas significativas respecto de las células sin tratamiento.

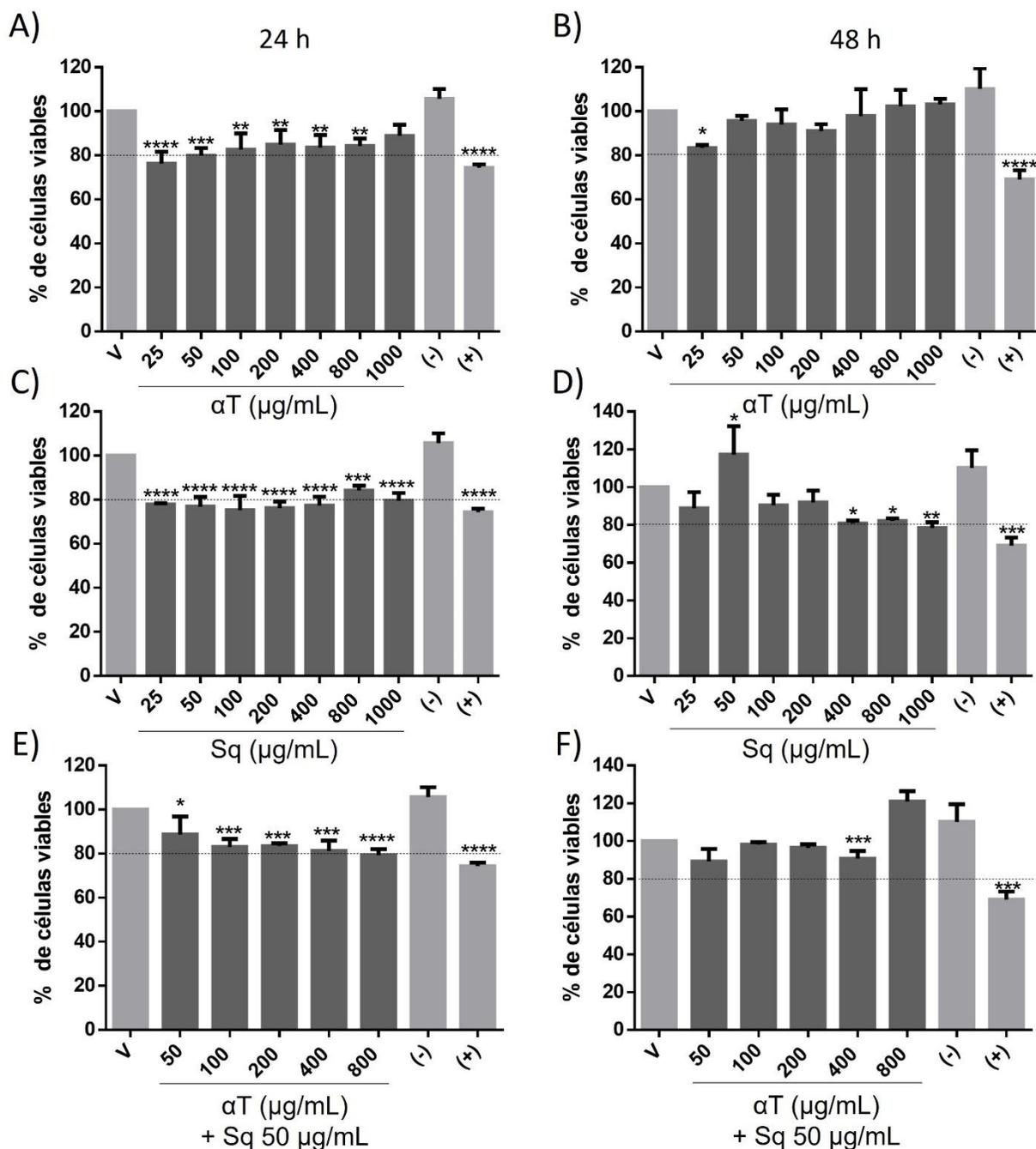


Figura 3. Efecto de α T, Sq y sus combinaciones sobre la viabilidad de células SiHa. A) y B): Células tratadas con diferentes concentraciones de α T por 24 y 48, respectivamente; C) y D): Células tratadas con diferentes concentraciones de Sq 24 y 48, respectivamente; E) y D): Células tratadas con diferentes combinaciones de α T y Sq por 24 y 48, respectivamente; V: Vehículo (DMSO 10%), (-): control negativo, DMEM/F12 SFB 10%. (+): control positivo, Cisplatino 100 μ M. ANOVA de una vía, prueba de Dunnett: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ y **** $p < 0.0001$ versus V.

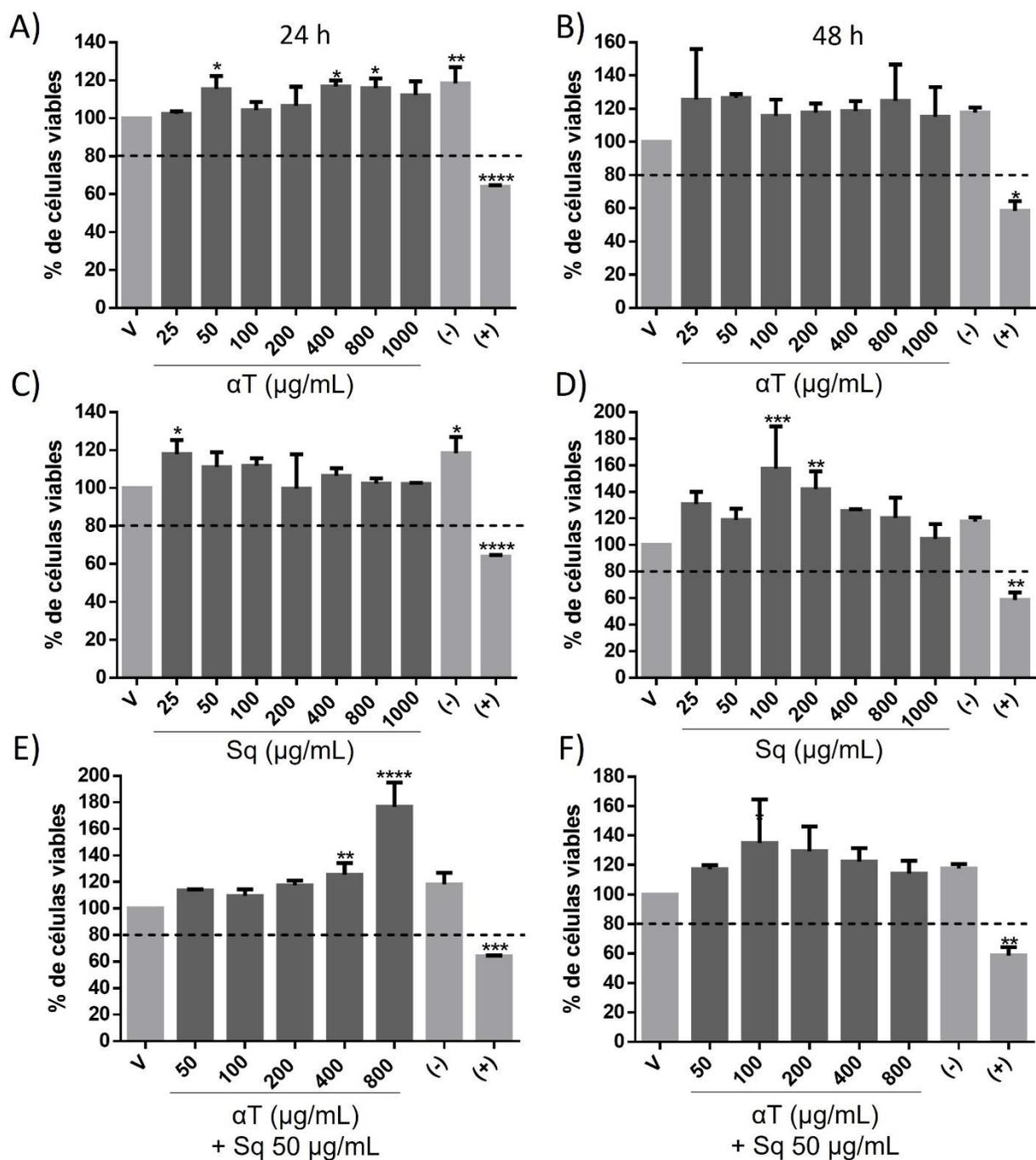


Figura 4. Efecto de α T, Sq y sus combinaciones sobre la viabilidad de células HaCaT. A) y B): Células tratadas con diferentes concentraciones de α T por 24 y 48, respectivamente; C) y D): Células tratadas con diferentes concentraciones de Sq 24 y 48, respectivamente; E) y D): Células tratadas con diferentes combinaciones de α T y Sq por 24 y 48, respectivamente; V: Vehículo (DMSO 10%), (-): control negativo, DMEM/F12 SFB 10%. (+): control positivo, Cisplatino 100 μ M. ANOVA de una vía, prueba de Dunnett: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ y **** $p < 0.0001$ versus V.

αT mostró un efecto prooxidante en las células tumorales SiHa, mientras que se comportó como antioxidante en las células no tumorales HaCaT

Para evaluar el nivel de daño oxidativo (lipoperoxidación), se determinó el nivel de malondialdehído (MDA) en las células HaCaT y SiHa después de haber sido pre-tratadas con *αT* (400 μg/mL), Sq (50 μg/mL), y su combinación por tiempos de 24 y 48 h, y posteriormente tratadas con H₂O₂ (0.1 M) por 2 h, condiciones que se sabe inducen daño oxidativo (lipoperoxidación) en células HaCaT (De la Cruz-Concepción *et al.*, 2021). En los tratamientos por 24 h en las células tumorales SiHa, solo la combinación de los compuestos (Mix 1: *αT*/Sq; 400/50 μg/mL) aumentó significativamente el nivel de MDA (>300%) respecto a las células sin tratamiento (Figura 5A). En 48 h, las tres condiciones analizadas mantuvieron la lipoperoxidación inducida por H₂O₂ en células SiHa (Figura 5B). El pretratamiento con *αT* durante 48 h, aumentó hasta 641.02 % el nivel de MDA en las células SiHa (Figura 5B) aparentemente en niveles mayores al control positivo, interesantemente, esta condición de tratamiento disminuyó en más del 100% el nivel de MDA en las células no tumorales HaCaT respecto al control positivo ($p < 0.001$) (Figura 6B), de tal modo que no se observaron diferencias estadísticas en el nivel de MDA con estas condiciones de tratamiento respecto a las células no tratadas ($p > 0.05$), lo que sugiere que *αT* protegió a las células no tumorales HaCaT contra el daño oxidativo inducido por el H₂O₂, comportándose como antioxidante en estas células (Figura 6B). La exposición a Sq y Mix 1 también disminuyeron significativamente el nivel de MDA inducido por H₂O₂ en células HaCaT principalmente a 48 h (Figura 6), pero en menor medida que el pretratamiento con *αT* durante 48 h.

Discusión

El daño oxidativo provocado a las biomoléculas por la presencia de estrés oxidativo en el organismo puede conllevar el desarrollo de enfermedades como el cáncer. Se ha reportado que la terapia contra cáncer puede tener efectos

secundarios en los pacientes que la reciben y afectar su calidad de vida. Por esta razón, continúa la búsqueda de terapias alternativas que permitan a los pacientes mantener la calidad de vida, actuando sobre las células tumorales sin afectar o protegiendo del estrés a las células normales en el organismo.

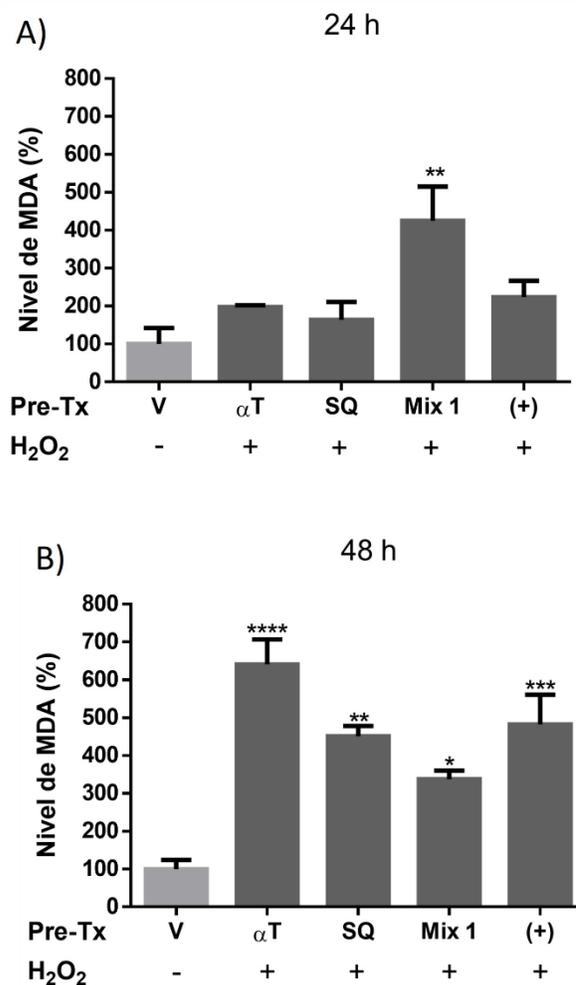


Figura 5. Efecto de *αT*, Sq y sus combinaciones sobre el nivel de estrés oxidativo (lipoperoxidación) en células SiHa: A) Células tratadas por 24 h; B): Células tratadas por 48 h. V: Vehículo; células tratadas con DMEM/F12 5% SFB. *αT* 400 μg/ml; Sq 50 μg/ml; Mix 1: *αT* 400 μg/ml + Sq 50 μg/ml (+): Control positivo; células tratadas con H₂O₂ (0.1 M). ANOVA de una vía, prueba de Dunette en dos momentos: (*) respecto a V, (*) respecto a (+); $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ y **** $p < 0.0001$.

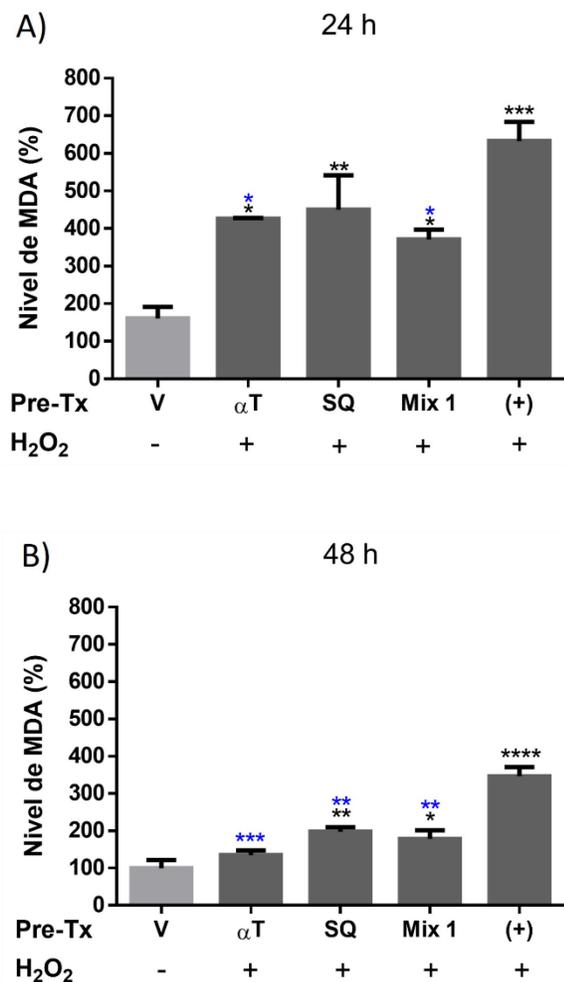


Figura 6. Efecto de α T, Sq y sus combinaciones sobre el nivel de estrés oxidativo (lipoperoxidación) en células HaCaT: A) Células tratadas por 24 h; B): Células tratadas por 48 h. Ensayo de MDA. V: Vehículo; células tratadas con DMEM/F12 5% SFB. α T 400 μ g/ml; Sq 50 μ g/ml; Mix 1: α T 400 μ g/ml + Sq 50 μ g/ml(+): Control positivo; células tratadas con H₂O₂ (0.1 M). ANOVA de una vía, prueba de Dunette en dos momentos: (*) diferencias respecto a V; (**) diferencias respecto a (+); $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ y **** $p < 0.0001$.

En este estudio, α T mostró capacidad de inhibición para los radicales ABTS⁺ y DPPH, aunque la CI₅₀ para ABTS⁺ fue menor que para DPPH, y puede deberse a que el ABTS es un radical menos selectivo, con mayor estabilidad y de amplio espectro, toda vez que puede actuar con antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos (Ilyasov *et*

al., 2020), mientras que el DPPH es un radical más selectivo, de carácter hidrofóbico (Romanet *et al.*, 2019). La capacidad de inhibición de los radicales DPPH y ABTS⁺ por parte de α T, radica en su composición fenólica, ya que se ha determinado que los compuestos fenólicos pueden disminuir la cantidad de radicales DPPH en concentraciones desde 10 a 30 μ g/mL, como se ha sugerido, todo depende de la donación de átomos de hidrógeno presentes en el compuesto (Huyut *et al.*, 2017; Ozsoy *et al.*, 2009). Por su parte, el Sq al tratarse de un triterpeno con un isoprenoide y seis dobles enlaces en su estructura (Ramírez-Torres *et al.*, 2011), su capacidad reductora de los radicales se ve limitada, pues no cuenta con los electrones necesarios para ser donados y neutralizar a los radicales. Sin embargo, se sabe que Sq puede actuar en sinergia con α T (Finotti *et al.*, 2000), y aumentar su capacidad de inhibición a los radicales DPPH y ABTS⁺, lo cual es acorde con las observaciones en el presente estudio.

Respecto al efecto de los compuestos sobre la proliferación celular, para las células tumorales SiHa, el efecto de α T, Sq y sus combinaciones disminuyendo el porcentaje de células viables fue más evidente a 48 h que a 24 h, esto podría indicar que los compuestos requieren un mayor tiempo de exposición para mostrar el efecto esperado. A pesar de que α T puede actuar como un agente eficaz en el tratamiento contra el cáncer, se ha reportado que distintas formas de vitamina E (γ T, δ T, γ TE, δ TE) pueden tener efecto anticancerígeno afectando distintas vías que favorecen la proliferación de células tumorales (Jiang, 2017). En un estudio se demostró que γ T, δ T, γ TE y δ TE suprimieron el desarrollo de tumores en modelos de cáncer animal, por su parte α T, fue ineficaz en estudios preclínicos con similitud a estos ensayos (Moya-Camarena y Jiang, 2012).

Por otra parte, ninguna condición de tratamiento disminuyó el número de células no tumorales viables HaCaT, incluso, algunas condiciones favorecieron la proliferación celular, probablemente debido a la capacidad citoprotectora del α T, como lo reportado por Yoon *et al.* (2018), quienes reportaron que el extracto de soja negra, rico en tocoferoles y carotenoides, favoreció la eliminación de

radicales libres y redujo los niveles intracelulares de ROS, protegiendo a los queratinocitos humanos (Yoon *et al.*, 2018). Estos datos, coinciden con lo reportado por Khallouki *et al.* (2016), que indicaron que los componentes de la VE δ -TP favorecen la proliferación en las líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 y T-47D, pero el δ -TT ejerce un efecto contrario al inhibir el crecimiento celular (Khallouki *et al.*, 2016).

Por otra parte, α T incrementó la lipoperoxidación en células SiHa, pero disminuyó los niveles de MDA en las células no tumorales HaCaT, sugiriendo que el α T podría ejercer un efecto protector en las células no tumorales. Además, de acuerdo con lo mencionado por Górnicka *et al.* (2019), la ingesta de α T es importante para mantener en óptimo estado el funcionamiento de todo el organismo (Miyazawa *et al.*, 2019). Se sabe que algunos compuestos naturales, como los flavonoides, pueden tener un efecto dual y actuar como antioxidantes en células no tumorales y como prooxidantes en células tumorales, activando vías de apoptosis y regulando a la baja las vías de señalización proinflamatorias (Kopustinskiene *et al.*, 2020). Un ejemplo de esto es el eugenol, que disminuyó el nivel de ATP e inhibió la fosforilación oxidativa y la oxidación de ácidos grasos en células de mama MCF-10A transfectadas con H-ras (Yan *et al.*, 2017). Los tratamientos con Sq tuvieron un efecto menor de lipoperoxidación en las células HaCaT, así como Gabás-Rivera *et al.* (2014) mencionan que la ingesta de Sq disminuyó el nivel de ROS en las lipoproteínas y MDA plasmático después de haber sido suministrado a ratones macho, con la finalidad de evaluar el papel de este compuesto en los niveles plasmáticos de lípidos (Gabás-Rivera *et al.*, 2014). Zhu *et al.* (2018) determinaron una actividad antiproliferativa en células de cáncer de mama MDA-MB-231. A partir de tratamientos combinados de β -sitosterol (esterol) con Genistina (isoflavona) y de Genistina con β -sitosterol, observaron un efecto sinérgico en los resultados, puesto que hubo una disminución en la CI_{50} de 24.55 μ M y 37.31 μ M, respectivamente, además de que, en ensayos de cierre de herida, observaron una reducción en la migración celular de 45.51 y 27.49% (Zhu *et al.*, 2018).

Una limitación de este estudio es que solo se evaluaron dos compuestos de los seis más abundantes en el extracto acetónico de *Ficus crocata*, del cual, como ya se mencionó, se reportó actividad citoprotectora contra el daño oxidativo inducido por H_2O_2 en células no tumorales HaCaT (De La Cruz-Concepción *et al.*, 2021), sin embargo, es posible que otros compuestos presentes en el extracto de hojas de *Ficus crocata* como Fitol, Estigmastan-3-5-dieno, β -sitosterol y Lupeol, tengan un papel importante en el efecto observado con el extracto, o sinergizen con α T y Sq para mostrar un efecto similar al extracto, sin embargo esta hipótesis aún debe probarse, además de probar el efecto de estos compuestos sobre modelos celulares de otros tipos de cáncer.

Conclusiones

α T mostró una actividad antioxidante sobre los radicales DPPH y el ABTS⁺, y el efecto mejoró al combinarlo con Sq, lo que puede interpretarse como una acción sinérgica de los compuestos. Por otra parte, el tratamiento con α T y Sq durante 24h disminuyó el número de células tumorales cervicales SiHa viables en todas las condiciones de tratamiento, en contraste, el porcentaje de células viables no tumorales HaCaT no disminuyó, incluso algunas condiciones aumentaron el número de células viables HaCaT respecto a las células sin tratamiento. α T mostró actividad antioxidante en las células no tumorales HaCaT, y actividad prooxidante en las células tumorales SiHa principalmente a las 48 h de tratamiento, lo que sugiere que el α T de forma individual o combinado con escualeno, podría ser útil como terapia complementaria contra cáncer, de modo que sensibilicen a las células tumorales a los fármacos contra cáncer, mientras que protejan a las células no tumorales del estrés oxidativo inducido por el tratamiento, sin embargo, aún se requiere de más estudios que confirmen el uso de α T, y posiblemente escualeno, puede mejorar la respuesta a los fármacos utilizados contra cáncer.

Referencias

Abusufyan, S., Ibrahim, M., Mohib, K. (2018). Comparative *in vitro* antidiabetic and

- antioxidant activity of various extracts of *Ficus* species. *Pharmacognosy Journal*, 10, 349-354.
- Aggarwal, V., Tuli, H.S., Varol, A., Thakral, F., Yerer, M.B., Sak, K., Varol, M., Jain, A., Khan, M.A., Sethi, G. (2019). Role of Reactive Oxygen Species in Cancer Progression: Molecular Mechanisms and Recent Advancements. *Biomolecules*, 9, 735.
- Agmon, E., Stockwell, B.R. (2017). Lipid homeostasis and regulated cell death. *Current Opinion in Chemical Biology*, 39, 83-89.
- Al-Musayeb, N., Ebada, S.S., Gad, H.A., Youssef, F.S., Ashour M.L. (2017). Chemotaxonomic diversity of three *Ficus* species: their discrimination using chemometric analysis and their role in combating oxidative stress. *Pharmacognosy Magazine*, 13(Suppl 3), S613–S622.
https://doi.org/10.4103/pm.pm_579_16
- Azzi, A. (2018). Many tocopherols, one vitamin E. *Molecular aspects of medicine*, 61, 92–103.
- Chen, Z., Bertin, R., Froidi, G. (2013). EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food Chemistry*, 138, 414-20.
- Chikara, S., Nagaprashantha, L.D, Singhal, J. Horne, D., Awasthi, S., Singhal, S.S. (2018). Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment. *Cancer Letters*, 413, 122-134.
- Cirmena, G., Franceschelli, P., Isnaldi, E., Ferrando, L., De Mariano, M., Ballestrero, A., Zoppoli, G. (2018). Squalene epoxidase as a promising metabolic target in cancer treatment. *Cancer Letters*, 425, 13-20.
- De la Cruz-Concepción, B., Espinoza-Rojo, M., Álvarez-Fitz, P., Illades-Aguilar, B., Acevedo-Quiroz, M., Zacapala-Gómez, A.E., Navarro-Tito, N., Jiménez-Wences, H., Torres-Rojas, F. I., Mendoza-Catalán, M.A. (2021). Cytotoxicity of *Ficus Crocata* extract on cervical cancer cells and protective effect against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HaCaT non-tumor cells. *Plants*, 10, 183.
- Fernandes, K.S., Silva, A.H.M, Mendanha, S.A., Rezende, K.R., Alonso, A. (2013). Antioxidant effect of 4-nerolidylcatechol and α -tocopherol in erythrocyte ghost membranes and phospholipid bilayers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 46, 780-788.
- Finotti, E., D'Ambrosio, M., Paoletti, F., Vivanti, V., Quaglia, G. (2000). Synergistic effects of alpha tocopherol, beta-sitosterol and squalene on antioxidant activity assayed by crocin bleaching method. *Nahrung*, 44, 373-374.
- Gabás-Rivera, C., Barranquero, C., Martínez-Beamonte, R., Navarro, M.A., Surra, J.C., Osada, J. (2014). Dietary squalene increases high density lipoprotein-cholesterol and paraoxonase 1 and decreases oxidative stress in mice. *PloS One*, 9, e104224.
- Galli, F., Azzi, A., Birringer, M., Cook-Mills, J.M., Eggersdorfer, M., Frank, J., Cruciani, G., Lorkowski, S., Özer, N.K. (2017). Vitamin E: Emerging aspects and new directions. *Free Radical Biology and Medicine*, 102, 16-36.
- Gaschler, M.M, Stockwell, B.R (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482, 419-425.
- Górnicka, M., Ciecierska, A., Hamulka, J., Drywień, M.E., Frackiewicz, J., Górnicki, K., Wawrzyniak, A. (2019). α -Tocopherol protects the heart, muscles, and testes from lipid peroxidation in growing male rats subjected to physical efforts. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 8431057.
- Hu, X., Li, S., Zhou, L., Zhao, M., Zhu, X. (2017). Effect of vitamin E supplementation on uterine cervical neoplasm: A meta-analysis of case-control studies. *PloS One*, 12, e0183395.
- Huyut, Z., Beydemir, Ş., Gülçin, İ. (2017). Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. *Biochemistry Research International*, 2017, 7616791.
- Ilyasov, I.R., Beloborodov, V.L., Selivanova, I.A., Terekhov, R.P. (2020). ABTS/PP Decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 1131.
- Jamanca-González, N.C, Alfaro-Cruz, S. (2017). Antioxidantes en los Alimentos. Lima-Perú. UNAB.
- Jiang, Q. (2014). Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radical Biology & Medicine*, 72, 76-90.

- Jiang, Q. (2017). Natural forms of vitamin E as effective agents for cancer prevention and therapy. *Advances in Nutrition* (Bethesda, Md.), 8, 850–867.
- Katerji, M., Filippova, M., Duerksen-Hughes P. (2019). Approaches and methods to measure oxidative stress in clinical samples: Research applications in the cancer field. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1279250.
- Khallouki, F., de Medina, P., Caze-Subra, S., Bystricky, K., Balaguer, P. Poirou, M., Silvente-Poirot, S. (2016). Molecular and Biochemical analysis of the estrogenic and proliferative properties of vitamin E compounds. *Frontiers in Oncology*, 5, 287.
- Kopustinskiene, D.M., Jakstas, V., Savickas, A., Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, 12, 457.
- Li, Y., Ouyang, S., Tu, L., Wang, X., Yuan, W., Wang, G., Wu, Y., Duan, W., Yu, H., Fang, Z., Kurihara, H., Zhang, Y., He, R. (2018). Caffeine protects skin from oxidative stress-induced senescence through the activation of autophagy. *Theranostics*, 8, 5713–5730.
- Mahoney, C.E., Pirman, D., Chubukov, V., Sleger, T., Hayes, S., Fan, Z.P., Allen, E.L., Chen, Y., Huang, L., Liu, M., Zhang, Y., McDonald, G., Narayanaswamy, R., Choe, S., Chen, Y., Gross, S., Cianchetta, G., Padyana, A. K., Murray, S., Liu, W., Marks, K.M., Murtie, J., Dorsch, M., Jin, S., Nagaraja, N., Biller, S.A., Roddy, T., Popovici-Muller, J., Smolen, G.A. (2019). A chemical biology screen identifies a vulnerability of neuroendocrine cancer cells to SQLE inhibition. *Nature Communications*, 10, 96.
- Malig, T.C., Ashkin, M.R., Burman, A.L., Barday, M., Heyne B.J.M., Back, T.G. (2017). Comparison of free-radical inhibiting antioxidant properties of carvedilol and its phenolic metabolites. *MedChemComm*, 8, 606–615.
- Micera, M., Botto, A., Geddo, F., Antoniotti, S., Berteza, C.M., Levi, R., Gallo, M.P., Querio, G. (2020). Squalene: More than a step toward sterols. *Antioxidants*, 9, 688.
- Miyazawa, T., Burdeos, G.C., Itaya, M., Nakagawa, K., Miyazawa, T. (2019). Vitamin E: regulatory redox interactions. *IUBMB Life*, 71(4), 430–441.
- Moya-Camarena, S.Y., Jiang, Q. (2012). The role of vitamin E forms in cancer prevention and therapy—studies in human intervention trials and animal models. In: Sarkar, F., (eds) *Nutraceuticals and cancer*. Springer, Dordrecht, 323–354.
- Ozsoy, N., Candoken, E., Akev, N. (2009). Implications for degenerative disorders: antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, beta-carotene and beta-tocopherol in Aloe vera. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2, 99–106.
- Park, J., Matralis, A.N., Berghuis, A.M., Tsantrizos, Y.S. (2014). Human isoprenoid synthase enzymes as therapeutic targets. *Frontiers in Chemistry*, 2, 50.
- Prasad, S., Gupta, S., Pandey, M., Tyagi, A., Deb L. (2016). *Oxidative Stress and Cancer: Advances and Challenges*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 5010423.
- Prasad, S., Gupta, S. C., Tyagi, A.K. (2017). Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. *Cancer Letters*, 387, 95–105.
- Pullar, J.M., Carr, A.C., Vissers, M. (2017). The Roles of Vitamin C in skin health. *Nutrients*, 9, 866.
- Qin, Y., Zhang, Y., Tang, Q., Jin, L., Chen, Y. (2017). SQLE induces epithelial-to-mesenchymal transition by regulating of miR-133b in esophageal Squamous cell carcinoma. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 49, 138–148.
- Ramírez-Torres, A., Gabás, C., Barranquero, C. (2011). *Squalene: current knowledge and potential therapeutical uses (Biotechnology in agriculture, industry and medicine)*. Nova Science Publishers Incorporated, 73p.
- Romanet, R., Coelho, C., Liu, Y., Bahut, F., Ballester, J., Nikolantonaki, M., Gougeon, R.D. (2019). The antioxidant potential of white wines relies on the chemistry of sulfur-containing compounds: an optimized DPPH Assay. *Molecules*, 24, 1353.
- Sánchez-Valle, V., Méndez-Sánchez, N. (2018). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Médica Sur*, 20(3), 161–168.
- Sánchez-Valdeolivar, C.A., Alvarez-Fitz, P., Zacapala-Gómez, A.E., Acevedo-Quiroz, M., Cayetano-Salazar, L., Olea-Flores M., Castillo-

- Reyes, J.U., Navarro-Tito, N., Ortuño-Pineda, C., Leyva-Vázquez, M.A., Ortíz-Ortíz, J., Castro-Coronel, Y., Mendoza-Catalán, M.A. (2020). Phytochemical profile and antiproliferative effect of *Ficus crocata* extracts on triple-negative breast cancer cells. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20, 191.
- Shimizu, N., Ito, J., Kato, S., Eitsuka, T., Saito, T., Nishida, H., Miyazawa, T., Nakagawa, K. (2019). Evaluation of Squalene oxidation mechanisms in human skin surface lipids and shark liver oil supplements. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1457, 158-165.
- Sies, H. (2018). On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 122–126.
- Silva, G.A.F., Nunes, R.A.L., Morale, M.G., Boccardo, E., Aguayo, F., Termini L. (2018). Oxidative stress: therapeutic approaches for cervical cancer treatment. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 73(suppl 1), e548s.
- Sylvester, P.W., Akl, M.R., Malaviya, A., Parajuli, P., Ananthula, S., Tiwari, R.V., Ayoub, N.M. (2014). Potential role of tocotrienols in the treatment and prevention of breast cancer. *BioFactors*, 40, 49–58.
- Termini, L., Fregnani, J.H., Boccardo, E., da Costa, W.H., Longatto-Filho, A., Andreoli, M. A., Costa, M.C., Lopes, A., da Cunha, I.W., Soares, F.A., Villa, L.L., Guimarães, G.C. (2015). SOD2 immunexpression predicts lymph node metastasis in penile cancer. *BMC Clinical Pathology*, 15, 3.
- Wang, L., Wang, C., Tao, Z., Zhao, L., Zhu, Z., Wu, W., He, Y., Chen, H., Zheng, B., Huang, X., Yu, Y., Yang, L., Liang, G., Cui, R., Chen, T. (2019). Curcumin derivative WZ35 inhibits tumor cell growth via ROS-YAP-JNK signaling pathway in breast cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 38, 460.
- Yan, X., Zhang, G., Bie, F., Lv, Y., Ma, Y., Ma, M., Wang, Y., Hao, X., Yuan, N., Jiang, X. (2017). Eugenol inhibits oxidative phosphorylation and fatty acid oxidation via downregulation of c-Myc/PGC-1 β /ERR α signaling pathway in MCF10A-ras cells. *Scientific Reports*, 7, 12920.
- Yoon, Y., Lee, Y.M., Song, S., Lee, Y.Y., Yeum, K.J. (2018). Black soybeans protect human keratinocytes from oxidative stress-induced cell death. *Food Science and Nutrition*, 6, 2423-2430.
- Zhu, Y., Yao, Y., Shi, Z., Everaert, N., Ren, G. (2018). Synergistic effect of bioactive anticarcinogens from soybean on anti-proliferative activity in MDA-MB-231 and MCF-7 human breast cancer cells *in vitro*. *Molecules*, 23, 1557.
- Zingg, J. M. (2019). Vitamin E: regulatory role on signal transduction. *IUBMB Life*, 71(4), 456–478.
- Zulkapli, R., Abdul-Razak, F., Zain R.B. (2017). Vitamin E (α -Tocopherol) exhibits antitumour activity on oral squamous carcinoma cells ORL-48. *Integrative Cancer Therapies*, 16, 414-425.

Tlamati Sabiduría



Inocuidad microbiológica en hortalizas

María Guadalupe Beltrán-Palacios¹
Atenas Cortés-Martell¹
Fernanda Donaji Memije-Soto¹
Daniel Alexander Cástulo-Arcos²
Arturo Ramírez-Peralta^{2*}

¹Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas s/n, Ciudad Universitaria Sur, 39070, Chilpancingo, Guerrero, México.

²Laboratorio de investigación en Patometabolismo Microbiano, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas s/n, Ciudad Universitaria Sur, 39070, Chilpancingo, Guerrero, México.

*Autor de correspondencia
ramirezperaltauagro@gmail.com

Resumen

Las hortalizas forman parte fundamental en la dieta de consumo humano debido a las distintas características nutricionales que aportan. Sin embargo, están expuestas a diferentes tipos de contaminación que interfieren en la inocuidad de las hortalizas, ya sea durante el proceso en la cadena de producción (pre-cosecha, cosecha, almacenamiento y distribución), venta y disposición final, entre estos se incluyen una gran cantidad de microorganismos patógenos causantes de enfermedades, incluidas bacterias. Considerando lo anterior, se realizó una revisión bibliográfica con el fin de actualizar la información acerca de la cadena de producción e inocuidad microbiológica en las hortalizas, llevándose a cabo una exploración en distintos buscadores científicos. Se realizó una descripción detallada acerca de la composición de las hortalizas, el proceso en la cadena de producción hasta su disposición final, además de las principales bacterias que pueden formar parte de la microbiota o como contaminación y, por último, los métodos de desinfección. Además, se

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Beltrán-Palacios M.G., Cortés-Martell A., Memije-Soto F.D., Cástulo-Arcos, D.A., Ramírez-Peralta, A. (2023). Inocuidad microbiológica en hortalizas. *Tlamati Sabiduría*, 15, 28-45.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; Publicado: 05 de agosto 2023



incluyeron 12 estudios enfocados en la búsqueda de *Salmonella spp*, en diferentes tipos de hortalizas, realizados en distintos países, desde las áreas de cultivo hasta los puntos de venta. En su mayoría, estos mostraron evidencia acerca de la presencia de este microorganismo, siendo más frecuente en hortalizas de hoja verde. En esta revisión bibliográfica, queda de manifiesto la importancia de la inocuidad con la que se deben manejar las hortalizas, desde su precosecha hasta el punto final de la manipulación humana, principalmente por su mínima cocción al ser ingeridas, siendo de gran importancia aquellos procesos para su desinfección.

Palabras clave: hortalizas, contaminación, inocuidad, microorganismos, medidas aislamiento.

Abstract

Vegetables are a fundamental part of the diet for human consumption due to their different nutritional characteristics. However, they are exposed to different types of contamination that interfere with the safety of vegetables during the production chain process (pre-harvest, harvest, storage, and distribution), sale, and final disposal, including a large number of disease-causing pathogenic microorganisms, including bacteria. A bibliographic review was carried out to update the information about the production chain and microbiological safety in vegetables, searching different scientific search engines. A detailed description was made about the composition of the vegetables, the process in the production chain until its final disposal, in addition of the main bacteria that can be part of the microbiota or as contamination, and finally, the disinfection methods. In addition, 12 studies focused on the search for *Salmonella spp* in different types of vegetables, carried out in other countries, from the cultivation areas to the points of sale, were included. Mostly, these showed evidence of the presence of this microorganism, being more frequent in green leafy vegetables. In this bibliographic review, the importance of the innocuousness with which vegetables should be handled is made clear, from their pre-harvest to the final point of human manipulation, mainly due to their minimal cooking when ingested, being of great importance those processes for their disinfection.

Keywords: vegetables, contamination, safety, microorganisms, isolation measures

Introducción

El consumo de hortalizas ha tenido un aumento significativo a lo largo de los últimos años, su popularidad se debe a su composición nutricional, debido a su bajo contenido calórico, alto nivel de agua, fibra y vitaminas (Sierra *et al.*, 2007). Las hortalizas generalmente se consumen en crudo; debido a esto, el consumidor puede contraer alguna enfermedad transmitida por los alimentos (ETAs), por la falta de inocuidad en la cadena de producción de las hortalizas (Puig *et al.*, 2014). Existen distintos factores que pueden afectar la inocuidad de este alimento como: el uso de fertilizantes a base de estiércol, la actividad animal, la producción de las hortalizas en campos con presencia de patógenos, el uso de agua

contaminada, contaminación en el almacenamiento de los vegetales (Alegbeleye *et al.*, 2010). Sin embargo, los problemas de seguridad no solo se limitan a las prácticas en la granja, sino que también incluyen problemas en la etapa de post-cosecha relacionados con el traslado de los productos a los mercados, se pueden presentar condiciones que fomenten o inhiban el crecimiento, supervivencia y / o transmisión microbiana (FAO, 2003). Las bacterias más comunes en estos alimentos pertenecen a la familia de Enterobacterias, entre ellas podemos mencionar a *Salmonella*, uno de los principales agentes causales de enfermedades diarreicas a nivel mundial asociado con estos productos frescos (Fatica y Schneider, 2011; Kurtz *et al.*,

2017). Para satisfacer la demanda de los consumidores de manera eficiente, existe una tendencia a sembrar hortalizas en grandes zonas de cultivo o en invernaderos extensos, lo que podría aumentar la vulnerabilidad de la cadena de suministro y el impacto potencial de un evento de contaminación con patógenos al consumidor (Hashemi, 2017). Con lo antes expuesto se plantea con esta revisión bibliográfica actualizar la información acerca de la inocuidad de las hortalizas.

Las hortalizas son percibidas por los consumidores como alimentos que fomentan la salud y la nutrición (Fernández-Ruiz, 2017). Estas presentan un riesgo latente a contaminarse en alguna etapa de producción desde el cultivo donde generalmente se realizan malas prácticas agrícolas cuando se desconoce sobre las recomendaciones científicas (Berger *et al.*, 2010), además, están expuestas desde su cosecha, transporte, venta, e incluso en el hogar de quien las consume (ONU, 2002). Es por eso pertinente estudiar la cadena de producción de las hortalizas y recabar información acerca de la inocuidad de las mismas.

Materiales y métodos

Esta revisión se inició con la búsqueda de artículos originales y de revisión en las bases de datos de PubMed ([PubMed \(nih.gov\)](http://pubmed.nih.gov)), Scielo (SciELO.org) y Google scholar ([Google Académico](http://GoogleAcadémico)). También se consideraron publicaciones oficiales de organizaciones gubernamentales que regulan la inocuidad alimentaria. Las palabras claves utilizadas para dicha búsqueda fueron “vegetables”, “contamination”, “safety”, “microorganisms” con el operador booleano AND. Se consideró tanto artículos en el idioma inglés como en español y que fueran de acceso abierto. Se elaboraron tablas como estrategia de resumen e integración de información.

Resultados

Descripción

Las hortalizas son aquellas plantas herbáceas o semi-herbáceas utilizadas por el hombre para su

alimentación y que a su vez son consumidas en forma fresca o procesada. El término hortaliza incluye a las verduras y a las legumbres (Ferratto y Mondino, 2008). Estas son regularmente cultivadas en huertos o regadíos con fines de autoconsumo y comercialización (Cruz-Delgado *et al.*, 2013).

Clasificación

Las hortalizas tienen tres formas de clasificación. La primera se relaciona con la parte de la planta que es comestible (OMS, 2005), en:

- Raíz comestible: zanahoria, rábano, nabo.
- Hoja comestible: apio, perejil, lechuga.
- Tallos y bulbos comestibles: cebolla, ajo, papa.
- Flor o coles comestibles: coliflor, brócoli, alcachofa.
- Fruto comestible: tomate, pepino, calabaza.
- Legumbres frescas o verdes: Guisantes, habas, judías verdes.

De igual forma, se pueden clasificar por el medio de conservación como: hortalizas frescas, congeladas, deshidratadas o liofilizadas (Dubey y Jalal, 2012). Por último, las hortalizas también se pueden clasificar de acuerdo con su color como se observa en la Tabla 1.

Composición nutricional

Las hortalizas tienen un menor contenido calórico, pues más del 90% de su composición es agua, muchas de ellas alcanzan cantidades similares a las de las bebidas (Sierra *et al.*, 2007). Las hortalizas no poseen un sabor dulce debido a que su contenido en azúcares simples es muy bajo, los hidratos de carbono que contienen, es almidón (que es la reserva energética de las plantas), no contienen grasas y poseen muy poco sodio, son ricas en fibra y gran cantidad de vitamina A, B1, B2, C, E y K, ácido fólico (B9), además de contener minerales como calcio (Ca), hierro (Fe), Magnesio (Mg), Fosforo (P), potasio (K) (OMS, 2005; Dubey y Jalal, 2012; Cruz-Delgado *et al.*, 2013).

| Hortalizas de hoja verde | Hortalizas amarillas/naranjas | Hortalizas de otros colores |
|--|---|--|
|  <p>Lechuga, escarola, achicoria, berro, acelga, espinaca.</p> |  <p>Tomate amarillo, pimientos, calabaza, las zanahorias.</p> |  <p>Berenjenas, nabo, jitomate, cebolla, ajo.</p> |
| <p>Aportan pocas calorías y tienen un gran valor alimenticio por su riqueza en vitaminas A, C, B, E y K. Su color se debe a la alta cantidad de clorofila (Ferratto y Mondino, 2008; Dubey y Jalal, 2012).</p> | <p>Son ricas en caroteno, el mismo que favorece la formación de Vitamina A (OMS, 2005).</p> | <p>Contienen poco caroteno, pero son ricas en vitamina C y en las vitaminas del complejo B (OMS, 2005; Ferratto y Mondino, 2008;).</p> |

Tabla 1. Clasificación de las hortalizas de acuerdo a su color.

Cultivo

El cultivo es el proceso del trabajo de la tierra y cuidado de las plantas para que den frutos y produzcan un beneficio. La mayoría de las hortalizas requieren una preparación fina y una nivelación de la tierra para un uso óptimo del agua (Sierra *et al.*, 2007; Alcazar, 2010).

Abono. El abono es una sustancia orgánica o inorgánica que pueden ser de características físicas, químicas o biológicas del suelo destinado a cultivos, la fertilización adecuada es importante para una producción óptima de hortalizas, manteniendo así los nutrimentos en cantidades suficientes para la planta. El suelo provee naturalmente algunos de ellos, pero si no los hay en la proporción adecuada, entonces deben agregarse. En todo caso, la fertilización es un problema local y cada productor debe determinar su propio programa. Hay nutrientes que juegan un rol muy importante durante todo el período de desarrollo de las plantas, estos reciben el nombre de macronutrientes primarios, como el nitrógeno,

fósforo y potasio (Alcazar, 2010; Dubey y Jalal, 2012).

Siembra. La siembra juega un papel importante en la agricultura, después de aflojar y arar la tierra, se seleccionan las semillas de buena calidad, se esparcen y se arrojan en la tierra previamente preparada (Alcazar, 2010). Las semillas, que dan altos rendimientos, generalmente se seleccionan y se siembran mediante los siguientes:

Siembra directa. Consiste en sembrar la semilla en el terreno definitivo una sola vez, al cabo de 7 días germinarán y emergerán las plantas creciendo en forma normal (Sierra *et al.*, 2007).

Siembra indirecta. Este tipo de siembra se realiza primero en recipientes especiales (almácigo) para su crecimiento, pasadas unas semanas o cuando tienen entre 3 a 4 hojas y un tamaño de planta de entre 10-12 centímetros, se sacan del almácigo para plantarlas en el terreno

definitivo (Sierra *et al.*, 2007; Krapovickas, 2011).

Riego. El riego es la aplicación artificial de agua al suelo a través de varios sistemas de tubos, bombas y aerosoles. El riego se usa generalmente en áreas donde las lluvias son irregulares o en épocas de sequía. Hay muchos tipos de sistemas de riego, en los que el agua se suministra a todo el campo de manera uniforme (Alcazar, 2010; Krapovickas, 2011).

El riego por goteo es un sistema de riego presurizado de baja descarga que lleva agua al sistema radicular de las plantas de forma continua, paulatina y lenta, en forma de gotas, lo que garantiza un suministro racional y un máximo aprovechamiento del recurso hídrico. Permite hacer entrega oportuna y continua de fertilizantes hidrosolubles cerca al sistema radicular lo que minimiza pérdidas, no causa humedecimiento de follaje, lo que evita la proliferación de enfermedades, reporta aumentos de producción y mejora en calidad de las cosechas, facilita y permite una mayor precisión en el manejo y control del agua para riego (Mercado, 2007; Cruz-Delgado *et al.*, 2013; Mohammed y Qoronfleh, 2020).

Cosecha. Es una intervención voluntaria por parte del hombre, realizada en el momento en que se han desarrollado todos los nutrientes y cuando las partes comestibles han alcanzado el grado de madurez adecuado a los tratamientos a seguir (Sierra *et al.*, 2007). Existen dos sistemas de cosecha:

Cosecha mecanizada. Tiene como ventaja la rapidez y un menor costo por tonelada recolectada, sólo puede ser utilizada en cultivos de maduración concentrada (Mercado, 2007).

Recolección manual. Es perfecta para cultivos con un largo período de cosecha. La principal ventaja del sistema manual se basa en la capacidad del ser humano de seleccionar el producto en su adecuado estado de madurez y de manipularlo con suavidad garantizando de esta manera una mayor calidad y menor daño. Esto es

particularmente importante en los cultivos delicados (Maña, 2004; Mercado, 2007).

Almacenamiento

La demanda de hortalizas es continuada a lo largo del año, por lo que el almacenamiento es el proceso normal para asegurar el aprovisionamiento de los mercados por el mayor tiempo posible. El almacenamiento también puede ser una estrategia para diferir la oferta del producto hasta que el mercado se encuentre desabastecido y de esta manera obtener mejores precios (Maña, 2004; Sierra *et al.*, 2007).

El tiempo por el cual un producto puede ser almacenado depende de sus características intrínsecas. De estas características propias, también dependen las condiciones en las que pueden ser almacenados. Por ejemplo, algunas especies soportan temperaturas cercanas a 0°C como las hortalizas de hoja y coles, mientras que otras no pueden ser expuestas a menos de 10°C, como la mayor parte de las frutas de origen tropical (Maña, 2004; Radilla y Gutiérrez, 2016).

Por lo general, las estructuras de almacenamiento están asociadas o forman parte de centros de acopio o depósitos de acondicionamiento y empaque, aunque es también muy frecuente la conservación al nivel de finca, ya sea al natural o en estructuras específicamente adaptadas para esta función (Izquierdo y Granado, 2011).

Distribución

Las hortalizas son productos perecederos, por lo cual su distribución adopta características propias, con una operativa logística adecuada, en ocasiones necesita asegurar una temperatura determinada constante, es decir, mantener la cadena de frío (ONU, 2002).

La distribución no es una actividad simple, toda vez que no solo consiste en el traslado de mercancías, sino que es un sistema para hacer llegar a los vegetales del agricultor al consumidor final; actúa como intermediario, se elige el canal más adecuado y los medios o vías capaces de proporcionar el mejor servicio; durante las exportaciones, los productos recorren caminos extensos hasta llegar a su destino, por ello es importante implementar las estrategias de higiene

adecuadas, donde sea correcto el almacenamiento y el transporte, en condiciones óptimas particularmente de temperatura, a fin de garantizar la calidad del producto en su entrega y venta (Izquierdo y Granado, 2011; Radilla y Gutiérrez, 2016).

Venta

El precio de un alimento se refleja en el número de consumidores y proveedores, de acuerdo con el costo de producción, distribución, grado de aceptabilidad del alimento, considerando también su disponibilidad, calidad y demanda (Izquierdo y Granado, 2011).

Inocuidad en la cadena de producción de hortalizas

La inocuidad alimentaria es un sistema de protección de los alimentos que garantiza la seguridad de su procesamiento, el cual se debe llevar a cabo donde quiera que se obtengan, fabriquen, preparen, almacenen o vendan los productos frescos como las hortalizas. La inocuidad de los alimentos es sumamente importante, debido a que impacta tanto la economía como la salud pública. La falta de inocuidad en la producción y manipulación de alimentos es uno de los factores que da origen a la proliferación de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), las cuales han ocasionado graves repercusiones en la salud e inclusive la muerte de una cantidad significativa de personas a nivel mundial (Puig *et al.*, 2013; Hussain y Gooneratne, 2017).

Fuentes de contaminación de hortalizas

Las fuentes de contaminación de alimentos son todo aquello que no es propio del alimento y que es capaz de provocar enfermedades a los consumidores. Por ello, hay distintos componentes que ponen en riesgo la inocuidad en los productos agrícolas.

En los años recientes, las verduras han ganado la atracción de los consumidores debido a su

reputación de ser saludables; el consumo de frutas y hortalizas frescas se ha convertido en elemento importante de una dieta sana y equilibrada. Sin embargo, dado que los productos frescos a menudo se comen crudos, se les reconoce cada vez más como fuentes importantes de transmisión de patógenos a humanos (Berger *et al.*, 2010; Fernández-Ruiz, 2017; Hölzel *et al.*, 2018).

Existen varios agentes, como productos químicos, físicos y biológicos, que pueden adulterar los alimentos en diferentes puntos del proceso de producción y preparación del alimento. Las rutas y las fuentes de contaminación de los productos agrícolas varían según la zona de producción, esto se debe a que cada sitio de cultivo tiene una combinación distinta de factores de riesgo ambiental, como la topografía, las interacciones del uso de la tierra y el clima. La combinación de estos factores de riesgo favorece en la frecuencia y transmisión del patógeno al alimento, interfiriendo en la inocuidad del producto (Berger *et al.*, 2010; Alegbeleye *et al.*, 2018).

Contaminación microbiológica

La contaminación microbiana es un problema complejo de resolver y la estrategia adecuada para garantizar calidad en el alimento es prevenir la contaminación a lo largo de toda la cadena de producción y distribución, en conjunto con buenas prácticas de higiene. Las distintas etapas que un producto debe pasar desde la precosecha (en el campo) hasta el consumo tanto fresco como procesado, proveen incontables oportunidades para incrementar el nivel de contaminación que naturalmente trae el campo (Figura. 1; FAO, 2003).

Los microorganismos se encuentran naturalmente en el medio ambiente, es decir, en el suelo, en el aire y en el agua, al igual que en las plantas, en los animales y en los humanos. Todos estos factores actúan como fuentes de microorganismos, mismos que contaminan los

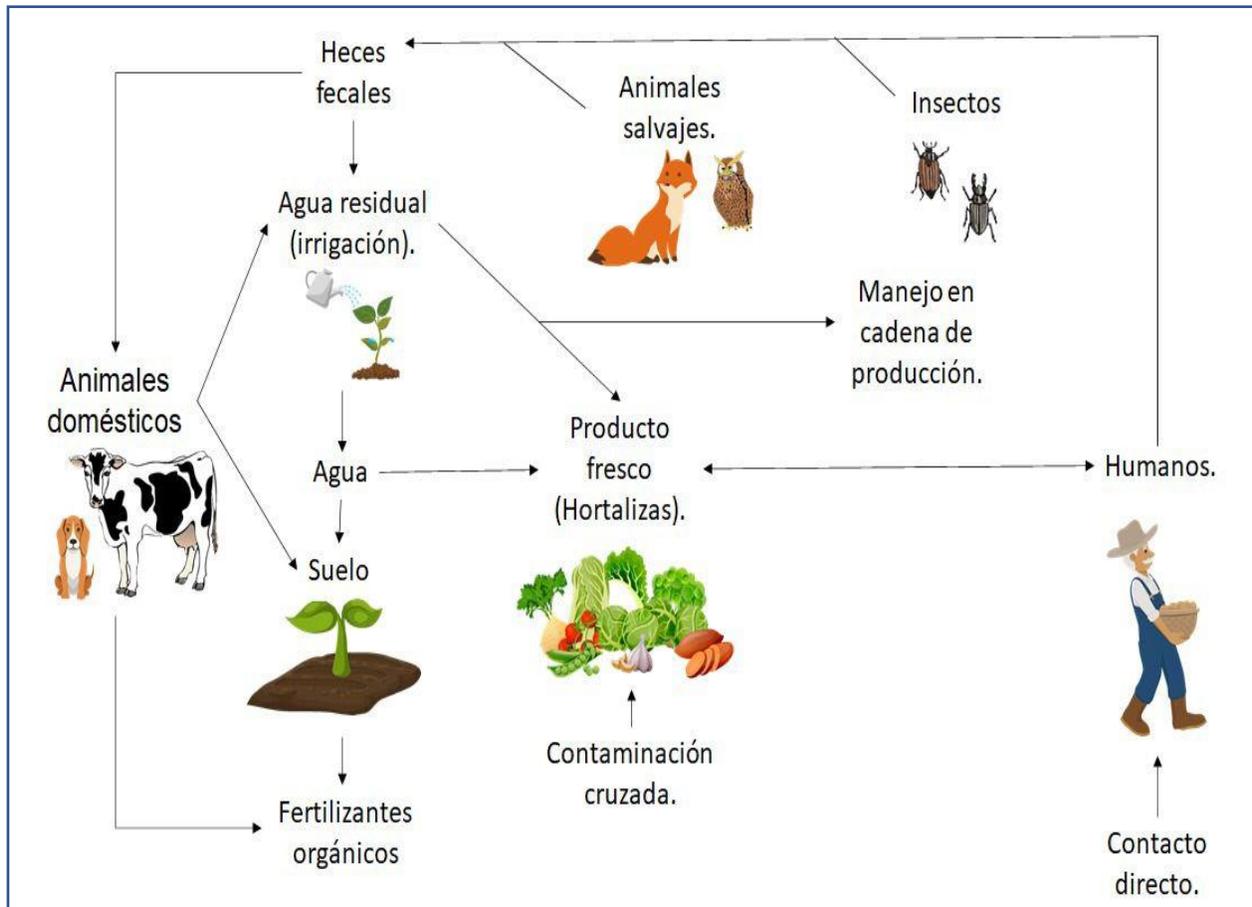


Figura 1. Ruta de contaminación de las hortalizas (Berger *et al.*, 2010).

alimentos y se desarrollan en ellos. Los peligros biológicos de origen alimentario se pueden determinar que existen cuatro tipos de microorganismos que pueden ser transportados por las frutas y hortalizas y que representan un peligro para la salud humana: virus (hepatitis A), bacterias (*Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp.), parásitos (*Giardia* spp.) y hongos; estos últimos no representan un peligro en sí mismos, sino a través de las micotoxinas que producen (FAO, 2003; Berger *et al.*, 2010).

Microbiota residente. Las hortalizas poseen en sus superficies una microbiota, algunos de estos microorganismos pasan naturalmente del ambiente donde los alimentos se procesan. Dentro del microbioma vegetal se han encontrado diversas comunidades bacterianas dominadas por

las *Actinobacterias*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Proteobacteria*, pero su composición varía de acuerdo con la especie vegetal (Hussain y Gooneratne, 2017). También existen algunos microorganismos que resultan benéficos para las hortalizas debido a que son capaces de segregar sustancias reguladoras del crecimiento vegetal. Dentro de este grupo se encuentran las rizobacterias estimuladoras del crecimiento vegetal como *Azospirillum* sp. Otros microorganismos con efectos positivos sobre las hortalizas, son los hongos formadores de micorrizas arbusculares, los cuales en su relación simbiótica actúan como mediadores del intercambio de nutrientes, permitiéndole a las plantas explotar mejor los recursos de su entorno (Maña, 2004; Hölzel *et al.*, 2018).

Sin embargo, los microorganismos patógenos son los principales que contaminan los productos durante la precosecha, debido a que algunos microorganismos peligrosos los encontramos formando parte de la flora natural del suelo o del ambiente (Berg *et al.*, 2014).

El tipo de producto también tiene influencia, debido a las características fisicoquímicas del alimento, favorecen la instalación de una microbiota específica en el mismo, por ejemplo, la microbiota fúngica tiende a colonizar a frutas, mientras que en hortalizas predominan las bacterias, siendo estas los contaminantes más comunes de estos alimentos. Son dichas características las que contribuyen al desarrollo de los microorganismos fecales, que gracias a su diversidad y pocas exigencias se adaptan a todo tipo de alimentos (Egbuta *et al.*, 2017).

Bacterias patógenas. Las bacterias son los microorganismos más comunes y los más importantes en los alimentos. Son organismos unicelulares que pueden crecer rápidamente a temperaturas y nutrientes favorables. Algunas descomponen los alimentos y otras proporcionan características deseadas, como es el caso de la fermentación láctica. Otras bacterias son agentes patógenos, causando enfermedades o intoxicaciones. Se encuentran en gran número en diferentes ambientes y pasan fácilmente a los alimentos (Moss, 2008; Castillo y Andino, 2010).

Por otro lado, como se ha mencionado antes, hay un sinnúmero de bacterias causantes de problemas en los alimentos y por consiguiente muchas de ellas causan enfermedades en los humanos. Las bacterias más comunes en los alimentos pertenecen a la familia de *Enterobacterias*, del género *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Erwinia* y *Yersinia* (Maña, 2004; Moss, 2008). Tiene mayor importancia clínica *Salmonella spp*, siendo una de las bacterias patógenas con mayor frecuencia implicada en infecciones o intoxicaciones alimentarias asociadas a hortalizas (Lynch *et al.*, 2009; Castillo y Andino, 2010).

Salmonella. Los microorganismos que pertenecen al género de *Salmonella* pueden crecer

en presencia o ausencia de oxígeno, presentan flagelos y tienen forma de bastón. Este género está compuesto por dos especies; *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*.

S. enterica contiene más de 2,500 cepas distintas (denominadas serovares o serotipos). Siendo esta especie la causante de enfermedades más frecuente relacionado con el consumo de frutas y verduras. Las cepas de *S. enterica* pueden colonizar semillas, semillas germinadas, hojas y frutos de una gran variedad de especies de plantas (Berger *et al.*, 2010; Fatica y Schneider, 2011; Kurtz *et al.*, 2017). El tiempo transcurrido desde la ingestión del alimento contaminado y la aparición de los síntomas varía considerablemente, pero generalmente está comprendido entre 12 y 36 horas. La infección por *Salmonella* (salmonelosis) se basa en la capacidad de la bacteria para sobrevivir a las condiciones adversas del estómago y llegar al sitio de colonización causando vómitos, diarreas, calambres y fiebres en los individuos que la padecen. El sistema inmune ayuda a controlar la infección, pero puede encontrarse debilitado en muchos niños pequeños, en mujeres embarazadas (tanto ellas como el feto), ancianos, individuos que sufren enfermedades crónicas. Se consideran de gran riesgo a los inmunocomprometidos, tales como pacientes diabéticos, cancerosos, con VIH/sida y gente sometidas a antibióticos (Fatica y Schneider, 2011; Zheng *et al.*, 2013).

La OMS declara que mundialmente se generan 21 millones de casos con entre 1 y un 4% (200,000 a 600,000) de casos graves. Destacando que el 90% de los casos letales se producen en Asia y que India, Pakistán y Bangladesh acumulan el 85% de los casos mundiales (Zheng *et al.*, 2013).

De acuerdo con los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), se estimaron brotes de *Salmonella* con base en productos agrícolas entre 2001 y 2009, se presentaron 38.4 millones de episodios de gastroenteritis transmitida por alimentos sólo en los Estados Unidos. Dentro de ellas, 17.8 millones fueron gastroenteritis aguda, y hubo al menos 473,832 hospitalizaciones en los EE. UU. cada año. Se estima que 5,072 personas mueren de gastroenteritis aguda cada año, de las cuales 1,498

muerter fueron causadas por los 24 patógenos conocidos transmitidos por los alimentos (Alegbeleye *et al.*, 2018; Berger *et al.*, 2010; Fatica y Schneider, 2011).

Medidas generales para la desinfección de hortalizas

La demanda de productos mínimamente procesados, como es el caso de las hortalizas, es de importancia creciente en los mercados tanto nacionales como internacionales. Por consiguiente, el consumidor busca productos seguros e inocuos; para esto es necesario la desinfección y el uso de agentes desinfectantes (Aguayo *et al.*, 2017).

La desinfección es un proceso fundamental que se lleva a cabo para obtener la reducción o erradicación de la carga microbiana presente en los alimentos (Aguayo *et al.*, 2017), utilizando sustancias denominadas desinfectantes que tienen como objetivo desnaturalizar las moléculas constitutivas y en ocasiones interrumpir los procesos metabólicos de algún microorganismo. Los desinfectantes que son para uso alimentario deben destruir rápidamente los microorganismos (Caisahuana y Zavala, 2020; Robles *et al.*, 2018; Siddiqui, 2018).

Clasificación de los métodos de desinfección para hortalizas

Los desinfectantes cumplen una ardua labor en la inocuidad microbiológica de los alimentos. Los podemos diferenciar en tres familias: químicos, métodos no químicos (naturales) y físicos. Este tipo de desinfección está basada en las propiedades biocidas en algunos compuestos químicos como los halógenos, quats y compuestos alcalinos. Existen factores que influyen este tipo de desinfección como lo son: tensión superficial, pH, tiempo del contacto, temperatura en la que se lleva a cabo la desinfección, número y localización de los microorganismos implicados en la labor (Pérez *et al.*, 2017).

Métodos químicos. Este tipo de desinfección está basada en las propiedades biocidas en

algunos compuestos químicos como los halógenos, quats y compuestos alcalinos. Existen factores que influyen en este tipo de desinfección como lo son: tensión superficial, pH, tiempo del contacto, temperatura en la que se lleva a cabo la desinfección, número y localización de los microorganismos implicados en la labor (Pérez *et al.*, 2017) (Tabla 2).

Métodos naturales. Son aquellas sustancias de origen natural capaces de inhibir el crecimiento y desarrollo de microorganismos. El uso de los antimicrobianos naturales ha dado paso en la industria de alimentos el disminuir el uso de compuestos artificiales para asegurar la inocuidad de los alimentos (Cisternas, 2017) (Tabla 3).

Métodos físicos. Son aquellos que emplean variables físicas como la temperatura (calor), radiaciones UV y limpieza; como el lavado mecánico. Los desinfectantes deben seleccionarse considerando los microorganismos que se desea eliminar, el tipo de producto que se elabora y el material de las superficies que entran en contacto con el producto. La selección depende también del tipo de agua disponible y el método de limpieza empleado.

La desinfección por calor húmedo se realiza en autoclaves que generan presión y vapor saturado. Se trata de un método totalmente fiable por su potencial de penetración en las materias, puesto que los microorganismos son mucho menos resistentes a la destrucción por calor húmedo, en función del tiempo de exposición. Tiene ventajas como: accesibilidad, bajo costo y ningún residuo tóxico (Serkonten, 2021).

La desinfección por calor seco se realiza por medio de hornos que generan aire a altas temperaturas, y el proceso se maneja en tiempo de exposición, y temperatura.

Las radiaciones UV se realizan mediante radiaciones ionizantes que penetran profundamente, este tipo de desinfectantes debe limitarse a las superficies y aire (Serkonten, 2021).

| Compuesto químico | Características y función desinfectante | Ejemplo |
|--|---|--|
| Compuestos halogenados | Son moléculas relacionadas con los átomos del grupo 17 en la tabla periódica. (Koseki <i>et al.</i> , 2004). Tienen un marcado efecto oxidante, gracias a esto tienden a modificar los grupos funcionales tanto de proteínas como de ácidos nucleicos. Generalmente son eficientes contra las bacterias, esporas bacterianas y hongos (Robles <i>et al.</i> , 2018). | El cloro es el halógeno más utilizado en la industria alimentaria. Se utiliza para el tratamiento del agua potable, de procesamiento y lavado, equipos y otras superficies (Koseki <i>et al.</i> , 2004). El yodo es una sustancia que por su reacción con el almidón es empleado exclusivamente en hortalizas que no tienen este carbohidrato (Robles <i>et al.</i> , 2018). |
| Compuestos amónicos cuaternarios (Quats) | Son derivados de los compuestos amónicos, a diferencia de los demás derivados, los Quats presentan una carga permanente (Pérez <i>et al.</i> , 2017). Las sales de estos compuestos perjudican la integridad de la membrana, interfiriendo con sus respectivas funciones, esto las hace ideales para el tratamiento con hongos y bacterias (Robles <i>et al.</i> , 2018). | Son compuestos con actividad detergente, sin embargo, presentan características desinfectantes, lo que les permite ser utilizados en la esterilización del alimento (Pérez <i>et al.</i> , 2017). |
| Compuestos alcalinos | La viabilidad celular e integridad de membrana de cualquier microorganismo se ve afectada estando en presencia de algún medio alcalino, provocando muerte celular (Garmendia y Vero, 2006). | La combinación de algunos compuestos como el peróxido de hidrógeno (sustancia básica) y el ácido láctico a temperaturas altas han dado buenos resultados en la desinfección de los alimentos (Koseki <i>et al.</i> , 2004). |
| Detergentes | La actividad detergente funge como emulsificante y solubilizante de los ácidos grasos de cadena larga. Esta propiedad permite utilizar los detergentes como agentes antimicrobianos (Fuentes, 2019). | El uso de detergentes facilita los procesos de lavado de los productos de origen vegetal. Se debe incluir una o varias fases de enjuagado posteriores con agua potable, que garanticen la eliminación de los detergentes y de los desinfectantes del agua de lavado (Fuentes, 2019; Koseki <i>et al.</i> , 2004). |
| Plata coloidal | Es una solución coloidal en la que se ven implicadas nanopartículas de plata (entre 1- 10 nm de diámetro). Puede desactivar la actividad del ADN, enzimática y de la membrana celular; esto afecta tanto la división celular como la respiración. En concentraciones bajas puede desactivar bacterias (San Lucas, 2017). | Este compuesto presenta un efecto oligodinámico, lo que le permite tener una liberación lenta y constante (San Lucas, 2017). |

Tabla 2. Métodos químicos para hortalizas.

| Sustancia | Composición y/o características | Microorganismos que desactiva |
|-----------------------------------|---|---|
| Concentrado de semilla de toronja | Es un líquido muy ácido y amargo. Está compuesto por bioflavonoides, aminoácidos, ácidos grasos, oligosacáridos, compuestos polifenólicos, tocoferoles, ácido ascórbico y ácido dihidroascórbico (Macías, 2014). | Bacterias Hongos Virus Parásitos (Macías, 2014). |
| Vinagre blanco | Conocido como ácido etanoico, tiene propiedades importantes al desactivar enzimas indispensables para la supervivencia del microorganismo. Se ha demostrado que esta sustancia tiene mayor respuesta cuando se encuentra en un grado de concentración y temperatura alta (Aldaz y Álvarez, 2020). | Bacterias (Aldaz y Álvarez, 2020). |

| | | |
|---------------|---|------------------------------|
| Jugo de limón | El ácido cítrico presente en el jugo de limón es considerado un ácido orgánico. Tiene efectos desinfectantes, su acción se basa en la acidificación del citoplasma impidiendo el glicólisis, transporte activo o la señal de transición en el microorganismo (Cisternas, 2017). | Bacterias (Cisternas, 2017). |
|---------------|---|------------------------------|

Tabla 3. Métodos naturales de desinfección para hortalizas.

Agentes físicos para la limpieza de hortalizas.

El proceso para eliminar la suciedad se puede realizar de forma manual o mecánica con la ayuda de utensilios como esponjas, estropajos, cepillos, escobillones generalmente junto con un desinfectante químico para la remoción completa de contaminantes. Es importante conocer bien las herramientas que se emplean en la limpieza, pues su uso indebido puede llevar a un deterioro excesivamente rápido de las superficies (Romaña, 2017).

La *acción mecánica* es la operación de eliminar la suciedad como tal. Puede realizarse de forma manual o mecánica con la ayuda de equipos. El lavado puede ser realizado por varios métodos, dependiendo de la naturaleza del producto a tratar. En el diseño de los sistemas de enjuagado es importante asegurar la agitación del agua de lavado, debido a que esto permitirá, por una parte, el correcto contacto superficial entre el agua de lavado y las frutas o verduras a lavar. El desinfectante más común para este tipo de sistemas de lavado es el cloro, generalmente adicionado en forma de hipoclorito. Este proceso viene seguido de un segundo paso en el que se produce el escurrido o centrifugado para eliminar la mayor parte posible del agua presente en la superficie y, de este modo, minimizar la posibilidad de reproducción de cualquier agente patógeno o alterante que permanezca en la superficie. Para este paso se utilizan diversos sistemas mecánicos como centrifugadoras, mesas vibratorias, túneles de secado (Macías, 2014; Romaña, 2017).

El *lavado de esponja* es un método físico que sigue formando parte de la acción mecánica, es la acción de limpieza realizada con las manos. Sirve para eliminar los residuos sólidos de

equipos y materiales. El polvo y la suciedad se acumularán en cualquier superficie expuesta. La contaminación puede incluir insectos muertos y desechos de plagas, los cuales presentan un peligro microbiano y de cuerpo extraño. Por ello los utensilios como cepillos y esponjas ayudan a eliminar los residuos de contaminación superficial de los productos, al igual como limpiar y desinfectar las herramientas que auxilian en la desinfección (Aldaz y Álvarez, 2020; Serkonten, 2021).

Medidas preventivas y estrategias de intervención

Actualmente, el control, reducción o eliminación de peligros físicos, químicos o microbianos es fundamental en el sector hortícola, garantizando así productos de alta calidad sanitaria. Para ello se han planteado diversas medidas de prevención y estrategias útiles que aseguren la inocuidad de las hortalizas, evitando su contaminación en sus etapas de producción, procesamiento, distribución y hasta el momento de su consumo (Gil *et al.*, 2015; Lee, 2019).

En las diferentes etapas de la producción hortícola es recomendable:

- Identificar fuentes puntuales, difusas o lineales que representen un riesgo de contaminación para los cultivos, por otro lado, si los cultivos ya establecidos se encuentran ubicados en zonas de alto riesgo será necesario la construcción de zanjas y áreas de amortiguamiento para reducir en lo posible los peligros microbianos (Murray *et al.*, 2017).
- Restringir el acceso de animales domésticos o silvestres colocando barreras físicas alrededor

de los cultivos para mantener su integridad (Lee, 2019).

- El personal debe ser o estar capacitado sobre las prácticas de higiene necesarias para el contacto y manipulación de las hortalizas, en caso de padecer una enfermedad se deberá informar inmediatamente a la gerencia para determinar las alternativas correspondientes (Gil *et al.*, 2015; Zheng *et al.*, 2013).
- El tratamiento de aguas utilizadas en los sistemas de riego se puede realizar de forma química, térmica, mediante ultrasonido o radiaciones, pero el método más económico es el tratamiento químico con cloro y sus derivados, cuyo propósito es destruir a las bacterias y hongos presentes en el agua, así como las transportadas sobre la superficie del fruto (Lee, 2019).
- Los cultivadores y recolectores siempre deben seguir las especificaciones técnicas por los fabricantes de equipos para su correcto uso y mantenimiento. El establecimiento de políticas y opciones de diseño sanitario que faciliten la limpieza, desinfección frecuente y exhaustiva de las superficies en contacto, se recomiendan detergentes en espuma de base ácida y alcalina, el vapor y agua caliente para descontaminar las superficies del equipo (Castillo y Andino, 2010; Norris y Congreves, 2018).
- Se debe evitar la proximidad al apilamiento de estiércol en la granja. Si se identifica el potencial de contaminación de la tierra contigua, se deben implementar estrategias de intervención, controlar la escorrentía o la lixiviación asegurando las áreas donde se almacena el estiércol. También debe minimizarse la proximidad de fuentes de contaminación dispersas por el viento o en aerosol (Cruz-Delgado *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2013).
- Los sistemas de producción de cada establecimiento deben evaluarse individualmente para identificar los requisitos de higiene específicos para cada producto.

Las estrategias de intervención dirigidas a inactivar o eliminar patógenos con el fin de reducirlos a niveles aceptables son el uso de Manejo Integrado de Plagas (MIP) y medidas de biocontrol para el control de plagas y enfermedades (Hashemi, 2017; Krapovickas, 2011).

- Pesaje y envasado, la combinación correcta de material de empaque, peso del producto y composición del gas dentro de un paquete son componentes críticos que deben determinarse para que cada producto pueda mantener la calidad y seguridad, y así extender su vida útil, por ejemplo, el diseño y los materiales del empaque deben brindar la protección adecuada para minimizar la contaminación de los productos y prevenir daños (Alegbeleye *et al.*, 2018; Castillo y Andino, 2010).
- Mantener un control adecuado de la temperatura durante el almacenamiento y transporte evitará o retrasará el crecimiento de la mayoría de los microorganismos. Durante el almacenamiento, la temperatura debe controlarse mediante un dispositivo de registro continuo de tiempo-temperatura o también se sugieren controles periódicos con un termómetro calibrado. Las medidas preventivas para garantizar la seguridad del producto incluyen buenas prácticas de higiene y limpieza durante el almacenamiento o transporte (Gil *et al.*, 2015; Norris y Congreves, 2018).

Los consumidores son un grupo objetivo importante para la información y la educación sobre cómo manipular los productos frescos y recién cortados de manera segura, y deben comprender sus funciones y responsabilidades para proteger estos productos de la contaminación. El papel del minorista debe extenderse más allá de la tienda. La seguridad alimentaria no debe detenerse una vez que la comida entra en el carrito de la compra. El minorista debe ser la mejor fuente de información sobre seguridad alimentaria para el consumidor. Además, es una ventaja para el

minorista educar a los clientes sobre los productos y la seguridad alimentaria. Educar a un cliente sobre la seguridad alimentaria puede retenerlo, puesto que compra con total confianza (Cruz-Delgado *et al.*, 2013; Fatica y Schneider, 2011; Krapovickas, 2011).

Discusión

En la presente revisión se analizaron diversos estudios sobre la calidad microbiológica de hortalizas que son para consumo humano en todo el mundo. Los estudios identificados se concentraron en un bajo número de países de la región, además, se logró el aislamiento de

diversos microorganismos como *Salmonella spp* con y sin resistencia a antibióticos, microorganismo causante de una de las enfermedades bacterianas más reconocidas a nivel mundial por sus numerosos casos de diarrea en humanos (Quansah y Chen, 2021) (Tabla 4). Estos autores analizaron vegetales de hoja verde exóticos donde reportó el aislamiento de 33 cepas de *Salmonella* recuperados de muestras de vegetales recolectados de 50 granjas en 12 áreas agrícolas, lo cual está relacionado a una contaminación durante la postcosecha o cosecha con aguas en condiciones insalubres.

| País | Hortaliza | Hallazgo | Referencia |
|----------------|---|---|--------------------------------|
| Ghana | Vegetales de hoja verde exóticas | 33 cepas <i>Salmonella enterica</i> , recolectadas en 50 granjas de vegetales y 12 áreas agrícolas. | Quansah y Chen (2021) |
| Estados Unidos | Melón | Un aislamiento de <i>Salmonella spp.</i> | Tango <i>et al.</i> (2014) |
| Estados Unidos | Cilantro | Un aislamiento de <i>Salmonella spp</i> | Korir <i>et al.</i> (2016) |
| España | Hortalizas frescas | Cuatro muestras resultaron positivas para <i>Salmonella spp.</i> | Abadias <i>et al.</i> (2008) |
| Países bajos | Lechuga iceberg, pepino. | <i>Salmonella spp</i> se halló 0,53% en la lechuga iceberg y el 5,1% en el pepino. | Wijnands <i>et al.</i> (2014) |
| Holanda | Hortalizas para ensaladas mixtas. | Un aislamiento <i>Salmonella typhimurium</i> DT104 | Pielaat <i>et al.</i> (2014) |
| Estados Unidos | Lechuga orgánica y un pimiento verde orgánico | 2 cepas de <i>Salmonella spp.</i> | Bohaychuk <i>et al.</i> (2009) |
| | Lechuga, espinaca, tomate, zanahoria, cebolla verde y fresa | No se aisló a <i>Salmonella</i> | Mukherjee <i>et al.</i> (2004) |
| España | Lechuga fresca | No se aisló a <i>Salmonella</i> | Oliveira <i>et al.</i> (2010) |
| Estados Unidos | Hojas verdes, hierbas, melones | No se aisló a <i>Salmonella</i> | Johnston <i>et al.</i> (2006) |
| Corea | Espinaca, lechuga romana y hojas de sésamo verde | No se aisló a <i>Salmonella</i> | Johnston <i>et al.</i> (2005) |
| Canadá | Vegetales verdes frescos | No se aisló a <i>Salmonella</i> | Allen <i>et al.</i> (2013) |

Tabla 4. Artículos analizados sobre la inocuidad microbiológica en hortalizas.

Johnston *et al.* (2005) recolectaron un total de 398 muestras entre verduras, hierbas y melones en lo cual *Salmonella* estaba presente en 0.7 % de muestras de melones. Este estudio demuestra que cada paso desde la producción hasta el consumo puede afectar la carga microbiana de los productos y refuerza las recomendaciones del gobierno para garantizar un producto de alta calidad (Tango *et al.*, 2014).

Korir *et al.* (2016) colectaron 414 muestras de albahaca, cilantro, cebollín, espinaca y perejil; obtenidos de tres tiendas minoristas. Estos autores reportaron que una muestra de perejil y una de cilantro fueron positivas para *Salmonella*, lo cual demuestra que dichos establecimientos no llevan un buen control de condiciones higiénicas.

Abadias *et al.* (2008) analizaron 300 muestras de frutas y hortalizas frescas, mínimamente procesadas de varios establecimientos minoristas de la zona Lleida (Cataluña, España), para determinar si la contaminación microbiana, y en particular las bacterias potencialmente patógenas, estaban presentes en estos productos básicos. Ahí mostraron que, de las muestras analizadas, cuatro (1.3%) resultaron positivas para *Salmonella*. Dichos resultados ponen en evidencia que se necesita mejorar el control microbiológico de los productos frescos obtenidos de tiendas minoristas.

Wijnands *et al.* (2014) analizaron lechuga roble, lechuga iceberg y pepino, encontrando una prevalencia de *Salmonella* desde el 0.53% en la lechuga iceberg hasta el 5.1% en el pepino. El aislamiento de este microorganismo representa un riesgo para la salud de los consumidores de estas ensaladas mixtas, debido a esto es importante aplicar métodos de desinfección como el lavado mecánico.

Pielaat *et al.* (2014) determinaron la presencia de *Salmonella* en la cadena de producción holandesa de ensaladas mixtas. Las principales fuentes de incertidumbre son la falta de descontaminación, es decir, el lavado de productos durante el procesamiento.

Mukherjee *et al.* (2004) examinaron distintos tipos de hortalizas de granjas orgánicas y convencionales, donde se encontró a *Salmonella* de una lechuga orgánica y un pimiento verde orgánico. Los productos hortícolas que tienen un

mayor porcentaje de incidencia de los microorganismos son los provenientes de granjas orgánicas, lo cual está relacionado con el uso de excrementos de animales como abono en la precosecha del producto (Bohaychuk *et al.*, 2009).

Por otro lado, diversos artículos consultados de diferentes autores, quienes también analizaron distintas muestras de hortalizas no encontraron presencia de *Salmonella* en los productos frescos. Sin embargo, sí encontraron contaminación por otro tipo de microorganismos como Bohaychuk *et al.* (2009), quienes examinaron muestras de distintas hortalizas provenientes de mercados públicos, grandes y pequeños y Oliveira *et al.* (2010) en lechuga convencional. Johnston *et al.* (2006) analizaron 466 muestras de frotis. Tango *et al.* (2014) realizaron una investigación donde examinaron de manera comparativa la calidad microbiológica de los productos cultivados en forma de producción convencional y los sistemas de producción orgánica, mientras que Allen *et al.* (2013) examinaron la calidad microbiológica de los productos importados disponibles al por menor en todo Canadá. Estos estudios antes mencionados demuestran la baja aplicación de controles de calidad de los productos frescos comercializados, siendo un factor de riesgo muy grave que permite la diseminación de patógenos con características especiales.

De acuerdo con los artículos analizados, se demuestra que la prevalencia de *Salmonella* es más frecuente en estos productos frescos y esto es el resultado de una combinación de factores relacionados con el desarrollo de la industria alimentaria y malas prácticas de manipulación, almacenamiento, distribución y preparación de alimentos. Estos factores han provocado problemas en la higiene de los alimentos al permitir la fácil diseminación de *Salmonella* y otros patógenos (Fatica y Schneider, 2011; Kurtz *et al.*, 2017). La actividad agrícola en el mundo a menudo carece de dinero de inversión, instalaciones (refrigeración, atmósferas controladas y modificadas y cámaras con control de humedad) y personal calificado para un adecuado control de calidad, y la desinfección durante la cosecha, almacenamiento y

distribución no recibe la atención adecuada (Maña, 2004). Los sistemas y mecanismos de transporte y distribución de alimentos también son deficientes.

Los resultados de este trabajo serán útiles para los productores, consumidores y autoridades sanitarias para poder concientizar sobre la importancia de mantener la inocuidad alimentaria en hortalizas.

Conclusiones

Se encontró evidencia científica que demuestra que existen diversos factores que ponen en riesgo la seguridad alimentaria; haciéndose notar que los productos frescos, como lo son hortalizas no están exentos de sufrir una contaminación por bacterias patógenas y que pueden transmitir enfermedades con graves efectos a la salud humana mediante su consumo. Debido a la popularidad creciente por consumir hortalizas por su gran aporte nutricional, es responsabilidad constante mantenerse y asegurar la inocuidad del producto desde la precosecha hasta el consumidor final, siguiendo las estrategias adecuadas de higiene y desinfección, a lo largo de toda la cadena de producción, para reducir y controlar cualquier riesgo de contaminación con patógenos en los productos frescos como bacterias del género *Salmonella*.

Agradecimientos

Al QBP. Joel Reyes Roldan por la actualización de referencias y del formato del envío para publicación.

Referencias

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 12, 1-9.
- Aguayo, E., Gómez, P., Artés-Hernández, F., Artés, F. (2017). Tratamientos químicos desinfectantes de hortalizas de IV gama: ozono, agua electrolizada y ácido peracético. *Agrociencia Uruguay*, 21, 7-14.
- Alcazar, J. (2010). Manual Básico “Producción de Hortalizas”. 1-30.
<https://studylib.es/doc/5468343/manual-basico-“produccion-de-hortalizas”>
- Aldaz, J., Álvarez, G. (2020). Estudio comparativo del ácido peracético y ácido acético en microorganismo patógenos presentes en *Lactuca sativa*. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, 124p.
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/50870>
- Alegbeleye, O.O., Singleton, I., Sant'Ana, A.S. (2018). Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: A review. *Food microbiology*, 73, 177-208.
- Allen, K.J., Kovacevic, J., Cancarevic, A., Wood, J., Xu, J., Gill, B., Allen, J.K., Mesak, L.R. (2013). Microbiological survey of imported produce available at retail across Canada. *International Journal of Food Microbiology*, 162, 135-142.
- Berg, G., Erlacher, A., Smalla, K., Krause, R. (2014). Vegetable microbiomes: is there a connection among opportunistic infections, human health and our ‘gut feeling’. *Microbial biotechnology*, 7, 487-495.
- Berger, C.N., Sodha, S.V., Shaw, R.K., Griffin, P.M., Pink, D., Hand, P., Frankel, G. (2010). Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens: Fresh produce as vehicles for transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology*, 12, 2385-2397.
- Bohaychuk, V.M., Bradbury, R.W., Dimock, R., Fehr, M., Gensler, G.E., King, R.K., Rieve, R., Romero, B.P. (2009) A microbiological survey of selected Alberta-grown fresh produce from farmers' markets in Alberta, Canada. *Journal of Food Protection*, 72, 415-20.
- Caisahuana, V.L., Zavala, G.I. (2020). Eficacia de la desinfección sobre la contaminación microbiana en superficies Hospitalarias. Huancayo 2019. Tesis de Licenciatura de Químico Farmacéutico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Peruana los Andes, 78p.
<https://hdl.handle.net/20.500.12848/1669>

- Castillo, Y., Andino F. (2010). Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. Microbiología de los alimentos. 1-63. <https://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiologia.pdf>
- Cisternas, L. (2017). Efecto de métodos combinados sobre la inactivación de *Escherichia coli* en jugo de zanahoria. Tesis de Magister en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, 71p. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/151061>
- Cruz-Delgado, D., Leos-Rodríguez, J.A., Altamirano-Cárdenas, J. (2013). México: factores explicativos de la producción de frutas y hortalizas ante la apertura comercial. Revista Chapingo serie horticultura. 19, 267-278.
- Dubey, S.R., Jalal, A.S (2012). Robust Approach for Fruit and Vegetable Classification. Procedia Engineering. 38, 3449-3453.
- Egbuta, M.A., Mwanza, M., Babalola, O.O. (2017). Health Risks Associated with Exposure to Filamentous Fungi. International journal of environmental research and public health, 719.
- FAO (2003). Departamento de Agricultura y Protección al consumidor. Capítulo 4: Aspectos higiénicos y sanitarios. Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas: Del campo al mercado. <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4893S/y4893s07.htm#bm07>
- Fatica, M., Schneider, K. (2011). Salmonella and produce: Survival in the plant environment and implications in food safety. Virulence, 2, 573-579.
- Fernández-Ruiz, I. (2017). The healthy diet-fruits, vegetables, legumes, and fats. Nature Reviews Cardiology, 14, 631.
- Ferratto, J., Mondino, M.C. (2008). Producción, consumo y comercialización de hortalizas en el mundo. Universidad Nacional de Rosario. 1-3. <http://hdl.handle.net/2133/1250>
- Fuentes, L. (2019) Actividad in-vitro de microorganismos autóctonos (*Bacillus subtilis* y *Lactobacillus brevis*) para reducir la colonización de *Salmonella entérica*. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. 1-65.
- <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/1149>
- Garmendia, G., Vero, S. (2006). Métodos para la desinfección de frutas y hortalizas. Horticultura, 197, 1-10.
- Gil, M.I., Selma, M.V., Suslow, T., Jacxsens, L., Uyttendaele, M., Allende, A. (2015). Pre- and Postharvest Preventive Measures and Intervention Strategies to Control Microbial Food Safety Hazards of Fresh Leafy Vegetables. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 55, 453-468.
- Hashemi, H. (2017). Comparison of the Effect of Perchlorine, Sodium Hypochlorite, and Electrochemical Method on Disinfection of Vegetables. Journal of Environmental Health and Sustainable Development, 2, 326-332.
- Hölzel, C., Tetens, J., Schwaiger, K. (2018). Unraveling the Role of Vegetables in Spreading Antimicrobial-Resistant Bacteria: A Need for Quantitative Risk Assessment. Foodborne pathogens and disease, 15, 671-688.
- Hussain, M., Gooneratne, R. (2017). Understanding the fresh produce safety challenges. Foods. 6, 23.
- Izquierdo, J., Granado, S. (2011). Manual técnico: Producción Artesanal de Semillas de Hortalizas para la Huerta Familiar. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 1, 100.
- Johnston, L.M., Jaykus L-A., Moll, D., Anciso, J., Mora, B., Moe, C.L. (2006). A field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin. International Journal of Food Microbiology, 112, 83-95.
- Johnston, L.M., Jaykus, L-A., Moll, D., Martinez, M.C., Anciso, J., Mora, B., Moe, C.L. (2005). A field study of the microbiological quality of fresh produce. Journal of Food Protection, 68, 1840-1847.
- Korir, R.C., Parveen, S., Hashem, F., Bowers, J. (2016). Microbiological quality of fresh produce obtained from retail stores on the Eastern Shore of Maryland, United States of America. Food Microbiology, 56, 29-34.
- Koseki, S., Yoshida, K., Kamitani, Y., Isobe, S., Itoh, K. (2004). Effect of mild heat pre-treatment with alkaline electrolyzed water on the efficacy of acidic electrolyzed water against

- Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on Lettuce. *Food Microbiology*, 21, 559–566.
- Krapovickas, A. (2011). Sembrar, plantar, cultivar, domesticar. *Bonplandia*, 20, 419.
- Kurtz, J.R., Goggins, J.A, McLachlan, J.B. (2017). *Salmonella* infection: Interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology letters*, 190, 42-50.
- Lee, M. (2019). Clasificación de productos vegetales por la Comisión del Codex Alimentarius. *Revista de higiene y seguridad de los alimentos*. 34(1). 87-93.
- Lynch, M., Tauxe, R., Hedberg, C. (2009). The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: risks and opportunities. *Epidemiology and infection*, 137, 307-315.
- Macías, S.W.G. (2014). Proceso de obtención de extracto a partir de la semilla de la toronja (*citrus paradisi*) y su aplicación en desinfección de vegetales o frutas y superficies planas. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Guayaquil, 106p.
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7195/1/MACIAS.pdf>
- Maña, B. (2004). Mejoramiento de la calidad e inocuidad de las frutas y hortalizas frescas: un enfoque práctico. págs: 57, 65, 66, 67; México. Consultado en marzo de 2021:
http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits_es/others/docs/manual_completo.pdf
- Mercado, C. (2007). Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: una visión integral. *Agroalimentaria*, 12, 119-131.
- Mohammed, S., Qoronfleh, M. (2020). Vegetables. In M. M. Essa & M. W. Qoronfleh (Eds.), *Personalized Food Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management* (Vol. 24, pp. 225-277). Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-30402-7_9.
- Moss, M. (2008). Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 1239-1243.
- Mukherjee, A., Speh, D., Dyck, E., Diez-Gonzalez, F. (2004). Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. *Journal of Food Protection*, 67, 894-900.
- Murray, K., Wu, F., Shi, J., Jun Xue, S., Warriner, K. (2017). Challenges in the microbiological food safety of fresh produce: Limitations of post-harvest washing and the need for alternative interventions, *Food Quality and Safety*, 1, 289-301.
- Norris, C.E., Congreves, K.A. (2018). Alternative management practices improve soil health indices in intensive vegetable cropping systems: a review. *Frontiers in Environmental Science*. 6, 50.
- Oliveira, M., Usall, J., Viñas, I., Anguera, M., Gatiús, F., Abadias, M. (2010). Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production. *Food Microbiology*, 27, 679-84.
- OMS (2005). Frutas y hortalizas para la salud: informe de la FAO conjunta.
<https://www.fao.org/3/cb2395es/online/src/html/frutas-y-verduras.html>
- ONU (2002). Manual de capacitación sobre higiene de los alimentos y sobre el sistema de análisis de peligro y puntos críticos de control (APPCC); Grupo Editorial Dirección de Información de la FAO, capítulo 3, págs. 12,13,14,15,16,17 y 18, Roma. Consultado en abril del 2021.
<https://www.fao.org/documents/card/en/c/f8e50d77-9f59-5a77-925a->
- Pérez, E.E., Barrera, P.C., Castelló, G.M.L (2017). Métodos para la desinfección en la industria alimentaria. Universitat Politècnica de València, 8p.
- Pielaat, A., van Leusden, F.M, Wijnands L.M. (2014). Microbiological risk from minimally processed packaged salads in the Dutch food chain. *Journal of Food Protection*, 77, 395-403.
- Puig, Y., Leyva, V., Rodríguez, A., Carrera, J., Morejón, P., Pérez, Y., Dueñas, O. (2013). Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 13, 11-119.
- Quansah, J.K, Chen, J. (2021). Antibiotic Resistance Profile of *Salmonella enterica*

- Isolated from Exotic and Indigenous Leafy Green Vegetables in Accra, Ghana. *Journal of Food Protection*, 84, 1040-1046.
- Radilla, C., Gutiérrez, R. (2016) Manual de Inocuidad. Págs: 33,34, 35; México, 2016. Consultado en marzo del 2021.
[Manual Inocuidad PDF | PDF | Almidón | Glucosa \(scribd.com\)](#)
- Robles, M.D.M., Villegas, E., Mota-Cortez, O., Gómez-Castellanos, I.E., Martín-Plascencia, P.C., Anaya-Esparza, L.M. (2018). Evaluación de la eficiencia de desinfectantes comerciales para uso alimentario en el control de crecimiento *Escherichia coli*. *Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos. Evaluación de la eficiencia de desinfectantes comerciales para uso alimentario en el control de crecimiento Escherichia coli | Semantic Scholar*
- Romaña, P.E. (2017). Implementación de una estrategia didáctica para la enseñanza de las propiedades fisicoquímicas de los halógenos y su correlación con las propiedades de algunas familias de sustancias derivadas, para estudiantes del grado décimo de la IE Gabriela Gómez Carvajal del Municipio de Medellín. Tesis de Magister en Ciencias Exactas y Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, 55p.
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/76988/11803452.2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- San Lucas, C.S.M. (2017). Determinación de la actividad bactericida del agua de plata sobre ensaladas listas para el consumo humano en restaurantes cercanos a una institución de educación superior. Tesis de la Carrera de Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato, 105p.
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26439/2/tesis%20terminado%20final.pdf>
- Serkonten, P. (2021). Métodos de Desinfección comunes. Los 3 procedimientos más importantes.
<https://phsserkonten.com/metodos-de-desinfeccion/>
- Siddiqui, M.W. (2018). Postharvest disinfection of fruits and vegetables. Academic Press, 302p., ISBN: 0128126981
- Sierra, A., Simonne, E., Treadwell, D. (2007). Principios y prácticas para el manejo de nutrientes en la producción de hortalizas. Universidad de la Florida, 1-14.
[HS1102/HS356: Principios y prácticas para el manejo de nutrientes en la producción de hortalizas \(ufl.edu\)](#).
- Tango, C.N., Choi, N-J., Chung, M-S., Oh, D.H. (2014). Bacteriological quality of vegetables from organic and conventional production in different areas of Korea. *Journal of Food Protection*, 77, 1411-1417.
- Wijnands, L.M., Delfgou-van, A.E.H.M., Beerepoot-Mensink, M.E., Van der Meij-Florijn, A., Fitz-James, I., Van Leusden, F.M., Pielaat, A. (2014). Prevalence and concentration of bacterial pathogens in raw produce and minimally processed packaged salads produced in and for the Netherlands. *Journal of Food Protection*, 77, 388-394.
- Zheng, J., Allard, S., Reynolds, S., Millner, P., Arce, G., Blodgett, R.J., Brown, E.W. (2013). Colonization and internalization of *Salmonella enterica* in tomato plants. *Applied and environmental microbiology*. 79. 2494-2502.



Efecto antifúngico de extractos naturales

Mariela Cano-Ponce¹
Carlos Daniel Emilio-Navarrete¹
Jhonatan Hernández-Ortega¹
Janeth Vázquez-Rodríguez¹
Francisco Israel Torres-Rojas^{1*}

¹Laboratorio de Biomedicina Molecular, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas, s/n Ciudad Universitaria, 39070, Chilpancingo, Guerrero, México.

*Autor de correspondencia

18485@uagro.mx

Resumen

Desde hace varias décadas, el ser humano ha tratado de encontrar respuestas a las enfermedades de las plantas causadas por hongos fitopatógenos. Estos hongos están relacionados con la devastación de diversos cultivos, principalmente tomate, aguacate, plátano, y otros. El uso de productos químicos, particularmente pesticidas, es una estrategia común para la solución de este problema. Sin embargo, el uso excesivo de estos compuestos se relaciona con la disminución de nutrientes en el suelo. Además, existe evidencia del desarrollo de resistencia a plaguicidas por parte de hongos fitopatógenos, ocasionando fuertes complicaciones en el combate contra las invasiones fúngicas en vegetales. Considerando esto, se ha propuesto el uso de extractos naturales con buena eficacia para reducir el desarrollo y crecimiento de hongos fitopatógenos en escenarios *in vitro*. La principal ventaja de la estrategia de extractos naturales como medida preventiva y correctiva contra los hongos mencionados, es su característica biodegradable. En la presente revisión se aborda el potencial efecto antifúngico de extractos naturales, sugiriendo la utilidad particular en el combate de infestaciones asociadas a los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Mycosphaerella* y *Colletotrichum* en cultivos agrícolas.

Palabras clave: Fitopatógenos, Extractos naturales, Plaguicidas, Inhibición del crecimiento.

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Cano-Ponce M., Emilio-Navarrete C.D., Hernández-Ortega J., Vázquez-Rodríguez J., Torres-Rojas F.I. (2023). Efecto antifúngico de extractos naturales. *Tlamati Sabiduría*, 15, 46-56.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; Publicado: 08 de agosto 2023



Abstract

Since several decades ago, the humans have tried find answer for plants diseases caused by phytopathogenic fungus. Phytopathogenic fungus are related to the devastation of various crops, mainly tomato, avocado, banana and others. The use of chemical products, such as pesticides is the most common strategy for this problem solution. However, the excessive use of pesticides is related with nutrients decreased in the soil. In addition, there is evidence of the development of resistance to pesticides by phytopathogenic fungi. Considering this, the use of natural extracts with a good efficacy in reducing the development and growth of phytopathogenic fungi *in vitro* scenarios has been proposed. The main advantage of natural extract strategy as a preventive and remedial measure against phytopathogenic fungi is their biodegradable characteristic. In this review, the potential antifungal effect of natural extracts is addressed, a great and specific usefulness in combating infestations associated with *Alternaria*, *Fusarium*, *Mycosphaerella* and *Colletotrichum* fungus in agricultural crops.

Keywords: Phytopathogens, Natural extracts, Pesticides, Inhibition growth.

Introducción

México es un país en vías de desarrollo cuyo sector económico está centrado en actividades terciarias como el turismo y transporte, en este sentido, es importante señalar que, actividades relacionadas con el sector agropecuario representan aproximadamente el 3% del PIB (Cardona-Reséndiz *et al.*, 2018). A pesar del bajo porcentaje que esto representa, el impacto económico del cultivo de piña, plátano y mango en México es muy importante, significando tan solo en exportación de mango cifras mayores a los trescientos millones de dólares para 2013 (Pat-Fernández *et al.*, 2017). Un grave problema en los cultivos de los frutos previamente señalados es la presencia y desarrollo de microorganismos patógenos, tal es el caso de los hongos fitopatógenos, agentes causales de alteraciones fenotípicas en los productos de cultivos, que afectan particularmente su apariencia, repercutiendo en el precio de venta de las mencionadas cosechas (Godfray *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2019). El tratamiento habitual para combatir las enfermedades ocasionadas por microorganismos fúngicos es considerado a base del uso de azoles (Jørgensen y Heick, 2021). El uso de este tipo de sustancias por más de cinco décadas ha ocasionado que los hongos fitopatógenos desarrollen sistemas de resistencia particularmente asociados a bombas de eflujo (Hahn, 2014), lo anterior ha ocasionado que las enfermedades en cultivos persistan y la

problemática ambiental aumente, por lo que nuevas estrategias en el combate de hongos han sido propuestas, entre las que resalta, la posibilidad de utilizar extractos de origen natural que muestran un alto porcentaje de inhibición del desarrollo fúngico y, además, son de fácil degradación en el ambiente.

Características patológicas en cultivos asociadas a la presencia de hongos fitopatógenos

Los hongos son organismos pluricelulares que se agrupan en filamentos. Son un gran problema en los sistemas de producción agrícola, ya que existen alrededor de 8,000 especies de hongos que producen enfermedades; los hongos que atacan a las plantas son denominados fitopatógenos (Shuping y Eloff, 2017). Se ha descrito a la antracnosis como una enfermedad fúngica asociada a la presencia de hongos contaminantes del género *Colletotrichum*, particularmente la especie *gloeosporioides*, que afecta diversas plantas en sus frutos, ramas, hojas e inclusive raíces. Los síntomas característicos son lesiones circulares de color marrón con aspecto aceitoso, y tonalidades oscuras que afecta a los frutos y caída prematura en flores, que con el transcurso del tiempo se expanden por toda la superficie. En cuanto a las ramas, tallos y hojas, provoca decaimiento y marchitamiento, se denomina cancro o chancro, necrosis hundida con un

aspecto húmedo, también podredumbre a nivel de ramas y tallos. Es importante señalar que, ciertos factores facilitan el desarrollo de estos hongos, particularmente las condiciones calurosas, así como la humedad relativa en lluvias, aunado a las heridas que presentan los vegetales a causa de golpes, podas mal realizadas o ataques de insectos (Veloso *et al.*, 2021). Por otro lado, la enfermedad Bayoud es ocasionada por el hongo *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis*, la cual se manifiesta comenzando con el marchitamiento progresivo, así como muerte foliar de las plantas que debido a la afectación de esos órganos pueden llegar a ocasionar la muerte de toda la planta (Hernández y Santos-Gutiérrez, 2021). De manera importante la enfermedad denominada Sigakota Negra es caracterizada por que las plantas afectadas particularmente por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* presentan manchas cloróticas pequeñas que aparecen en la superficie inferior denominada abaxial. Posteriormente las manchas crecen convirtiéndose en rayas de color marrón, que con el paso del tiempo las manchas se vuelven más oscuras y muy perceptibles a la vista (Bennett y Arneson, 2003).

Uno de los hongos con mayor importancia agrícola es *Alternaria Solani*, agente causal de una enfermedad clásica de plantas de tomate y papa, llamada “tizón temprano”, caracterizada por la lesión de las raíces y tallo o la infección foliar de las hojas (Chen-Lopez, 2021).

Principales características de hongos fitopatógenos

El género *Colletotrichum* se distingue como un grupo de hongos patógenos de diversas plantas silvestres y muchas plantas en cultivo. Forman parte de un grupo llamado ascomicetos que atacan los cultivos en diferentes regiones tanto tropicales como subtropicales (Lira-Gómez, 2018). Entre las especies fitopatógenas de *Colletotrichum* más comunes se encuentra *Colletotrichum Gloeosporioides*, agente causal de la Antracnosis, que afecta a todas las especies y variedades de plantas de cultivos, comúnmente a los plátanos, aguacate, mango, cítricos, entre otros. Su presencia se manifiesta usualmente en etapa postcosecha ocasionando importantes pérdidas

económicas (Basulto *et al.*, 2011). El género *Colletotrichum* presenta características morfológicas importantes en su identificación como tamaño, forma, color de colonia, textura, con un crecimiento micelial circular con un margen entero, por lo regular de color blanco que contiene masas conidiales de color naranja en el centro de las colonias (Rojo-Báez *et al.*, 2017). El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas, con capacidad de desarrollo a 37°C, son considerados oportunistas. Al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada, sus macroconidios característicos presentan forma de media luna, hialinos y septados (Tapia y Amaro, 2014).

En relación a las características morfológicas del hongo *Mycosphaerella fijiensis* son sus ascosporas obtenidas de tejidos dañados, se denotan hialinas, globosas, con un septo y una pequeña constricción de éste, formando dos células unidas, la cual, una de ellas es ligeramente más abultada que la otra; por otro lado, los hongos que pertenecen al género *Alternaria* se han caracterizado por ser hongos dematiáceos, los cuales se describen por ser filamentosos y presentar un color oscuro. La mayoría de las especies que pertenecen a este género son hongos que se alimentan de materia orgánica o en descomposición, suelen ser cosmopolitas (Pavón-Moreno *et al.*, 2012).

Estrategias comúnmente utilizadas en el combate para hongos fitopatógenos

El impacto nocivo de la presencia de hongos fitopatógenos ha intentado ser remediado a través del desarrollo de métodos rápidos y precisos en donde ha sido necesario anteponer ciertos aspectos, particularmente la relación costo-beneficio para el productor, en este sentido, una de las alternativas más comunes ha sido la utilización de productos químicos (Alburquerque-Andrade y Gusqui-Mata, 2018).

Benzimidazoles

Los benzimidazoles son fungicidas utilizados en bajas dosis de manera comercial para el control de enfermedades y plagas. Son sistémicos y tienen

un amplio efecto curativo para las plantas, sin embargo, en los últimos años se han reportado cepas con resistencia a este tipo de fungicidas, lo que ha limitado su uso en algunos países bananeros del mundo. Dentro de los benzimidazoles podemos encontrar productos como Benomil, uno de los más utilizados en banano, también encontramos el metil tiofanato y el carbendazim. Estos actúan sobre la síntesis β -tubulina, proteína encargada de la formación de los microtúbulos necesarios durante la división celular (Pérez *et al.*, 2003). Para el combate de la contaminación mediada por especies fúngicas del género *Fusarium* es ampliamente utilizada la estrategia basada en fungicidas sistémicos del grupo de los benzimidazoles en donde se encuentran el benomil, carbendazim, tiabendazol, y tiofanato (Smith-Barton *et al.*, 2004; Villa-Martínez *et al.*, 2015). Es importante señalar que el uso no controlado de carbendazim ha sido relacionado con el desarrollo de resistencia fúngica (Alburquerque-Andrade y Gusqui-Mata, 2018).

El biocontrol de *Colletotrichum* spp., habitualmente se realiza por medio del uso de fungicidas centrados en el control particular de la antracnosis, sin embargo, el uso indiscriminado de los mencionados fungicidas ha generado ciertas consecuencias no positivas para la salud humana y el desarrollo de resistencia a antifúngicos (Sandoval-Chávez *et al.*, 2011). Habitualmente, los fungicidas utilizados para el combate de *Colletotrichum* pertenecen a la familia de los benzimidazoles, particularmente el Antracol 70 PM en las afectaciones de mango asociadas a este género de hongos (Landeró-Valenzuela *et al.*, 2016), Trifloxistrobin en afectaciones en cultivos de papaya (Arias y Carrizales, 2007), el Benomil en cultivo de cítricos (Villa-Camacho, 2019), adicionalmente, el uso de compuestos inorgánicos como el oxiclورو de cobre ha sido reportado en cultivos de cítricos también (De la Cruz *et al.*, 2014).

Inhibidores de la dimetilación (DMI)

La mayor parte los ingredientes activos pertenecientes a la clase de los DMI son considerados como un sólo grupo de productos,

entre los cuales encontramos algún grado de resistencia cruzada. La mezcla de dos o más DMI (comúnmente denominados triazoles) puede ser utilizada para garantizar una buena eficacia biológica, sin embargo, esto no debe ser considerado una estrategia anti-resistencia. Todos los miembros de este grupo afectan la biosíntesis del ergosterol. Dentro de este grupo, los productos comúnmente utilizados para el control de Sigatoka negra son: difenoconazole, epoxyconazole, fenbuconazole, flutriafol, metconazole, propiconazole, tebuconazole, tetraconazole y triadimenol (BWG, 2018).

Aminas

Las aminas también actúan sobre la síntesis del ergosterol, pero en sitios diferentes a los DMI. Dentro de este tipo de compuestos, el primer producto introducido para el combate de la Sigatoka negra en banano fue el tridemorf en 1981, y hasta ahora no se ha reportado resistencia en cultivos agrícolas; el tridemorf se encuentra en proceso de salida, pero se mantiene el fenpropimorf, la spiroxamina y el fenpropidin como moléculas que pertenecen a esta familia (Llarena-Perea, 2013).

Compuestos químicos en el combate contra especies de Alternaria

La presencia de especies del género *Alternaria* en cultivos agrícolas es un fenómeno común y de fuerte impacto por lo que el desarrollo de productos químicos para su combate es algo necesario. Derivado de esto, se ha sugerido el uso de ciertos fungicidas como Signum FR, en el cual encontramos el Boscalid (Carboxamida) como ingrediente activo; el producto Cabrio, contiene como ingrediente activo al Pyraclostrobin (Estrobilurinas) y, adicionalmente el uso de Azoxistrobina ha sido probado, éste último tiene como ingrediente activo al Azoxistrobin (Estrobilurinas); todos los productos mencionados son considerados de acción rápida y aplicados en los frutales o plantaciones cuando existen indicios de lesión causada por especies de *Alternaria* (Félix-Gastelum y Gálvez-Figueroa, 2002).

Adicionalmente se sugiere la utilización de fungicidas protectores como el Bellis, cuyos compuestos activos son el Boscalid y Pyraclostrobin, clasificándolo dentro de los grupos de Estrobilurinas y Carboxamidas, los cuales permiten controlar la aparición del hongo, y se aplican al iniciar la floración de la planta, finalmente, Mancozeb, teniendo como ingrediente activo Mancozeb, clasificado dentro de Fungicidas Multi-sitio que puede utilizarse en época de lluvias para asegurar cultivos más resistentes, o bien, cuando las lesiones ya se han presentado como una medida de remediación (Gómez-Reconco y Núñez-Espinoza, 2019). En relación con lo anterior y considerando el creciente deterioro de los suelos, tanto de forma química, física como biológica, se han explorado estrategias amigables con el medio ambiente y seguras para los consumidores; usualmente, los planes para el control de plagas en cultivos contemplan el uso de productos químicos. Entonces, nosotros abordamos reportes del control de crecimiento fúngico de los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Mycosphaerella* y *Colletotrichum* que se han asociado con grandes pérdidas agrícolas, por lo que la implementación del uso de extractos naturales en los planes de cultivo pudiera otorgar un panorama alentador para los productores (Lira-De León *et al.*, 2014).

Eficacia de extractos vegetales como sustancias biorremediadores antifúngicas

Alternaria

En relación con las especies del género *Alternaria* se han probado una gran variedad de extractos naturales entre los que se destaca el uso de extractos obtenidos a partir de romero (*Rosmarinus officinalis*), salvia (*Salvia officinalis*) o esclarea (*Salvia sclarea*), observaciones realizadas utilizando extractos de los mencionados vegetales han reportado efectos que se pueden equiparar a los de fungicidas comerciales, señalando que la mejora en la optimización de su uso se mantiene en desarrollo (Díaz-Dellavalle *et al.*, 2011). Extractos metanólicos de menta, eucalipto y lavándula han resultado eficaces en el combate de la mancha foliar de la papa ocasionada por *Alternaria*

Alternata (Zaker y Mosallanejad, 2010). En este sentido, se ha probado con prometedores resultados a extractos de semillas de espina de camello (*Vachellia erioloba*) que han resultado eficaces contra la especie *A. alternata* (Al-Askar, 2012), en relación con la potencial utilidad de extractos de la planta morera (*Morus alba*), destaca una actividad antifúngica importante de los extractos metanólicos y etanólicos de corteza de raíz (Kwon *et al.*, 2019). Entre las especies de *Alternaria* de importancia agrícola se localiza *Alternaria solani*, agente causal de la enfermedad del tizón tardío en cultivos de tomate, estudios realizados con ácido gálico y sus derivados (ácidos siríngico y pirogálico) han demostrado importantes resultados terapéuticos en las plantas de tomate tratadas, induciendo, además, mejoras en el aspecto y producción de los organismos vegetales (El-Nagar *et al.*, 2020).

Fusarium

El género de hongos *Fusarium* agrupa una amplia variedad de especies fitopatógenas, entre los cuáles *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* presenta una disminución en su desarrollo al ser tratados con extractos metanólicos de raíz de rábano (*Raphanus sativus*), y estos efectos son mayores que al usar los extractos de frutas y hojas. Así mismo, otra forma de tratamiento para esta especie es con neem (*Azadirachta indica*), pues sus semillas han demostrado una eficacia similar a los productos químicos comerciales, verbigracia, carbofuran y bavistin, por lo que se destaca su capacidad antifúngica, además se recalca que el estado de Guerrero cuenta con esta planta (Hadian *et al.*, 2011; Javaid y Bashir, 2015). El tratamiento de *Fusarium verticillioides* con extracto de chipilín (*Crotalaria longirostrata*), resulta ser eficaz modulando negativamente el crecimiento del hongo y se sugiere este tipo de extracto podría ser un excelente biorremediador (Cruz-Rodríguez *et al.*, 2020). De manera adicional, se ha propuesto que extractos naturales de pimienta/mostaza, casia y clavo pudieran ser incorporados en los planes de cultivo a modo de prevención, derivado de su actividad antifúngica probada contra especies de *Fusarium* (Bowers y Locke, 2000). Finalmente,

en relación a especies *Fusarium*, extractos orgánicos del árbol ciprés del Atlas (*Cupressus atlántica*) y del árbol chicle de coral (*Eucalyptus torquata*) son capaces de inhibir el crecimiento micelial y esporulación de *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, esto debido principalmente a su contenido de polifenoles y flavonoides (Bouhlali *et al.*, 2020).

Mycosphaerella

La Sigatoka negra causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* M es clasificada como una de las plagas más destructivas para plantaciones bananeras causando grandes pérdidas económicas para los productores. El manejo de ésta, ha sido a través de productos químicos, pero se ha demostrado que el uso de fungicidas hechos a base de extractos naturales tales como *Momordica charantia* y *Senna reticulata* han mostrado tener un gran efecto en el control inhibitorio contra dicha plaga, de igual manera este método de acción es innovador, sustentable y respetuoso para el ambiente (Osorio-Salamanca, 2016). Diversos extractos vegetales a partir de neem (*Azadirachta indica*), vermonia amarga (*Vernonia amigdalina*) y de albahaca de clavo (*Ocimum gratissimum*), han mostrado importantes resultados en la inhibición del crecimiento y desarrollo de *Mycosphaerella fijiensis*, el agente causal de sigatoka negra en las plantas de banano (Okigbo y Emoghene, 2004). De igual manera, la inhibición del crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis* ha sido reportado por acción del extracto metanólico de la especie *Topobea cf discolor* (Mosquera *et al.*, 2009) así como los extractos del árbol de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) (Gutiérrez-Jiménez *et al.*, 2017); es importante señalar que el gel de sábila (*Aloe vera*) ha mostrado eficacia antifúngica similar a la que poseen fungicidas químicos como el propiconazol en el combate de la proliferación de *Mycosphaerella fijiensis* (Jaramillo *et al.*, 2017). Una especie del género *Mycosphaerella* que también se caracteriza por ocasionar la enfermedad de sigatoka negra es el hongo *Mycosphaerella musicola*. En relación con esto, extractos de la planta conocida como bigotes de gato (*Orthosiphon diffusus* Benth) y de la

planta conocida como redermachera (*Redermachera xylocarpa* Roxb) han resultado ser muy eficientes en la inhibición del desarrollo micelial de la especie miceliosa (Aman y Rai, 2015). La aplicación del quitosano, el cual, teniendo como principal ingrediente activo, la “Quitosa” extraída de la pared celular de hongos y levaduras tales como ascomicetos, zigomicetos, basidiomicetos y deuteromicetos, puede clasificarse dentro de los extractos naturales y es una alternativa para el control del hongo *Mycosphaerella fijiensis*, dicho extracto mostró una disminución en el crecimiento micelial. A través de un estudio *in vitro* se observó una buena efectividad contra *M. fijiensis* pudiéndose comparar con algunos químicos utilizados para la eliminación de mencionado hongo (Ayala *et al.*, 2014).

Colletotrichum

La antracnosis relacionada con la infección por diversas especies del hongo *Colletotrichum* puede ser combatida mediante el uso de diversos extractos naturales, particularmente el extracto de lavanda (*Lavandula officinalis*) ha mostrado hasta un 66.23% de inhibición en el desarrollo de *Colletotrichum acutatum*, el extracto de manzanilla (*Chamaemelum nobile*) con 52.78 % de inhibición (Alzate *et al.*, 2009). Para este mismo microorganismo la presencia de los componentes timol y citral de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y limoncillo (*Cymbopogon citratus*) son capaces de inhibir en un 100% el desarrollo micelial en un periodo de once días (García-Mateos *et al.*, 2021). El extracto metanólico de la higuera (*Phytolacca icosandra*) ha mostrado hasta un 70% de inhibición en el desarrollo de *colletotrichum gloesporioides* (Pérez-Cordero *et al.*, 2011), lo que puede ser de gran utilidad en el control de antracnosis en frutos postcosecha, demostrando así que la funcionalidad de los diversos extractos naturales puede ser dependiente de la especie a retar.

Como resultado de la presente revisión, la utilidad de extractos naturales en el combate de hongos fitopatógenos se puede apreciar en la tabla 1.

| Hongo | Principal cultivo afectado | Control usual (nombre comercial) | Extracto orgánico probado | Eficiencia del extracto contra el hongo | |
|---|---|--|---|--|--------|
| <i>Alternaria sp.</i> | Tomate (<i>Solanum lycopersium</i>) | Signum FR® | Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) | 20.4 % | |
| | | | Salvia (<i>salvia officinalis</i>) | 41.9 % | |
| | Papa (<i>Solanum tuberosum</i>). | Cabrio® | Semillas de espina de camello (<i>vachellia erioloba</i>) | — | |
| | | | Belis® | Morera (<i>Morus alba</i>) | 5.1 % |
| <i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i> | Tomate (<i>Solanum lycopersium</i>) | Bavistin® | Raíz de rábano (<i>Raphanus sativus</i>) | 95 % | |
| | | Benomil | Hoja de rábano (<i>Raphanus sativus</i>) | 39 % | |
| | | Carbofuran | Semillas de Neem (<i>Azadirachta indica</i>) | 85 % | |
| | | Carbendazim | | | |
| | | Tiabendazol | Pimienta (<i>Piper nigrum</i>) | 99.9 % | |
| <i>Micosphaerella Fijiensis</i> | Plátano (<i>Musa × paradisiaca</i>) | Tifanato | | | |
| | | *Benzimidazoles (MBC) | Melón amargo (<i>Momordica charantia</i>) | 89 % | |
| | | *Inhibidores de la di-metilación (DMI) | Tarantán (<i>Senna reticulata</i>) | 92.3 % | |
| | | | Albaca de clavo (<i>Ocimum Gratissimum</i>) | 70.4% | |
| | | *Aminas | *Carrizos (<i>Topobea cf discolor</i>). | 100% | |
| | | *TRIDENDE 86 OL®. | *Bigotes de gato (<i>Orthosiphon diffusus Benth</i>) | 67.2 % | |
| | | *CALIXIN 86 OL® | *Árbol de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) | 100 % | |
| <i>Aloe vera (Aloe vera)</i> | 44.84 % | | | | |
| <i>Colletotrichum spp.</i> | Aguacate (<i>Persea americana</i>) | Benzi midiazoles | Lavanda (<i>Lavandula officinalis</i>) | 66.23 % | |
| | Plátano (<i>Musa × paradisiaca</i>) | | Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>) | 100 % | |
| | Mango (<i>Mangifera indica</i>) | | Antracol | Limoncillo (<i>Cymbopogon citratus</i>) | 100 % |
| | Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) | | Trifloxistrobin | Metanolico de la higuera (<i>Phytolacca icosandra</i>) | 70 % |
| | | | Benomil | Manzanilla (<i>Chamaemelum nobile</i>) | 52.78% |

Tabla 1. Potencial utilidad de extractos naturales en el combate de hongos fitopatógenos.

Conclusiones

Actualmente existe un amplio panorama de oportunidad para que diversos extractos naturales sean una alternativa viable en estrategias de combate a plagas relacionadas con efectos fitopatógenos, además, este tipo de extractos pueden ser de fácil acceso para la mayoría de productores de cultivos de una gran variedad de materia prima para el consumo humano como tomate (*Solanum lycopersicum*), aguacate (*Persea americana*), plátano (*Musa x paradisiaca*), entre otros. Los extractos de pimienta, limoncillo, tomillo, árbol de canela y carrizos, muestran porcentajes de eficacia de hasta un 100% en la inhibición del desarrollo de hongos fitopatógenos en particular abordados en esta revisión, incluso superando a productos químicos comercializados que contienen ingredientes activos a derivados de benzimidazoles, que en los pequeños sistemas de producción no son accesibles por sus costos o demanda, esto último, sin dudas es una excelente opción a desarrollar.

Referencias

- Al-Askar, A.A.A. (2012). In vitro antifungal activity of three Saudi plant extracts against some phytopathogenic fungi. *Journal of Plant Protection Research*, 52, 458-462.
- Alburqueque-Andrade, D., Gusqui-Mata, R. (2018). Effectiveness of Chemical Fungicides for in Vitro Control of Different Phytopathogens in Controlled Conditions. *Arnaldoa*, 25, 489-498.
- Alzate, O., Diego, A., Mier, M., Gonzalo, I., Afanador, K., García, P.C.M. (2009). Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra *Colletotrichum acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios. *Vitae*, 16, 116-125.
- Aman, M., Rai, V.R. (2015). Antifungal activity of fungicides and plant extracts against yellow sigatoka disease causing *Mycosphaerella musicola*. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 5, 277-284.
- Arias, B., Carrizales, L. (2007). Control químico de la antracnosis del mango (*Mangifera indica* L.) en pre y postcosecha en el municipio Cedeño, estado Monagas, Venezuela. *Bioagro*. 19, 19-25.
- Ayala, A., Colina, M., Molina, J., Vargas, J., Rincón, D., Medina, J., Rosales, L., Cárdenas, H. (2014). Evaluación de la actividad antifúngica del quitosano contra el hongo *Mycosphaerella Fijiensis Morelet* que produce la Sigatoka negra que ataca al plátano. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 15, 312-338.
- Basulto, S.F., Díaz, P.R., Gutiérrez, A.O., Santamaría, F.J., Larqué, S.A. (2011). Control de dos Especies de *Colletotrichum* causantes de Antracnosis en Frutos de Papaya Maradol. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2, 631-643.
- Bennett, R.S., Arneson, P.A. (2003). Sigatoka Negra. <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/BlackSigatokaEspañol.aspx>.
- Bouhlali, E.D.T, Derouich, M., Ben-Amar, H. (2020). Exploring the potential of using bioactive plant products in the management of *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*: the causal agent of Bayoud disease on date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9, 46.
- Bowers, J., Locke, J. (2000). Effect of Botanical Extracts on the Population Density of *Fusarium oxysporum* in Soil and Control of *Fusarium* Wilt in the Greenhouse. *Plant Disease*, 84, 300-305.
- BWG (2018). Banana Working Group: Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). https://www.frac.info/docs/default-source/working-groups/banana-group/group/banana-wg-meeting-minutes-2018---spanish.pdf?sfvrsn=f5ae489a_2
- Cardona-Reséndiz, G.A., Cardenete-Flores, M.A., Martínez-García, C.I. (2018). Estructura económica mexicana: sectores claves, estratégicos, impulsores e independientes 2012. *Revista de economía*, 35, 9-50.
- Chen-Lopez, J. (2021). Perfil de agente patógeno: *Alternaria*.

- <https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/perfil-de-agente-patogeno-alternaria/>
- Cruz-Rodríguez, R.I., Cruz-Salomón, A., Ruiz-Lau, N., Pérez-Villatoro, J.I., Esquinca-Avilés, H.A., Meza-Gordillo, R. (2020). Potential Application of *Crotalaria longirostrata* Branch Extract to Reduce the Severity of Disease Caused by *Fusarium*. *Agronomy*, 10, 524.
- De la Cruz, M.T., Arenas, M.G.H., Pérez, L.A.A. (2014). Efecto del trifloxystrobin sobre frutos de papaya (*Carica papaya* L.) infectados por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y *Sacc.*, en postcosecha. *Kuxulkab'*, 17 (32).
- Díaz-Dellavalle, P., Cabrera, A., Alem, D., Larrañaga, P., Ferreira, F., Dalla-Rizza, M. (2011). Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71, 231-239.
- El-Nagar, A., Elzaawely, A.A., Taha, N.A., Nehela, Y. (2020). The Antifungal Activity of Gallic Acid and Its Derivatives against *Alternaria solani*, the Causal Agent of Tomato Early Blight. *Agronomy*, 10, 1402.
- Félix-Gastelum, R., Gálvez-Figueroa, C.A. (2002). Control del moho negro, *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) en el fruto del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) considerando unidades de calor y variables ambientales para la aplicación de Azoxystrobin en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20, 72-76.
- García-Mateos, M.R., Acosta-Ramos, M., Rodríguez-Pérez, E., Vásquez-Sánchez, J., Hernández-Ramos, L. (2021). Extractos vegetales para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro, en periodo de floración y poscosecha del fruto de *Carica papaya*. *Polibotánica*, 51, 213-228.
- Godfray, H.C.J., Mason-D'Croz, D., Robinson, S. (2016). Food system consequences of a fungal disease epidemic in a major crop. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B: Biological Sciences*, 371, 20150467.
- Gómez-Reconcó, M.C., Núñez-Espinoza, C.J. (2019). Evaluación de fungicidas para el control de *Alternaria* spp. en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) bajo condiciones de laboratorio. Tesis de Grado no publicada. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras. bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/b3ea4fc6-c1af-4c1a-a551-81906796d298/content
- Gutiérrez-Jiménez, E., Pedroza-Sandoval, A., Martínez-Bolaños, L., Samaniego-Gaxiola, J.A., García-González, F. (2017). Effect of natural oils against *Mycosphaerella fijiensis* under in vitro conditions and detection of active plant chemicals. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36, 141-150.
- Hadian, S., Rahnama, K., Jamali, S., Eskandari, A. (2011). Comparing neem extract with chemical control on *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita* complex of tomato. *Advances in Environmental Biology*, 5, 2052-2057.
- Hahn, M. (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of Chemical Biology*, 7, 133-41.
- Hernández, J.M., Santos-Gutiérrez, E. (2021). Fusariosis de la palmera canaria. <https://gmrcanarias.com/wp-content/uploads/2020/10/Fusariosis.pdf>.
- Jaramillo, A., Barrezueta, S., Romero, L.E., Herrera, C.S. (2017). Efecto biofungicida del gel de Aloe vera sobre *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musa (AAA). *Scientia Agropecuaria*, 8, 273-278
- Javaid, A., Bashir, A. (2015). Radish extracts as natural fungicides for management of *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Lycopersici*, the cause of tomato wilt. *Pakistan Journal of Botany*. 47, 321-324.
- Jørgensen, L.N., Heick, T.M. (2021). Azole Use in Agriculture, Horticulture, and Wood Preservation - Is It Indispensable? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 730297.
- Kwon, O.C., Ju, W.T., Kim, H.B., Kim, Y.S. (2019). Antifungal activities of extracts from different parts of mulberry plant against *Alternaria alternata* and *Fusarium* sp. *International Journal of Industrial Entomology*, 38, 6-13.

- Landero-Valenzuela, N., Lara-Viveros, F.M., Andrade-Hoyos, P., Aguilar-Pérez, L.A., Aguado-Rodríguez, G.J. (2016). Alternativas para el control de *Colletotrichum* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7, 1189-1198.
- Li, C.X., Zhu, J.Z., Gao, B.D., Zhu, H.J., Zhou, Q., Zhong, J. (2019). Characterization of a novel ourmia-like mycovirus infecting *Magnaporthe oryzae* and implications for viral diversity and evolution. *Viruses*, 11, 223.
- Lira-Gomez, F. (2018). *Colletotrichum*: características, taxonomía, morfología. <https://www.lifeder.com/colletotrichum/>
- Lira-De León, K.I., Ramírez-Mares, M.V., Sánchez-López V., Ramírez-Lepe, M., Salas-Coronado, R., Santos-Sánchez, N.F., Valadez-Blanco, R., Hernández-Carlos, B. (2014). Effect of crude plant extracts from some Oaxacan flora on two deleterious fungal phytopathogens and extract compatibility with a biofertilizer strain. *Frontiers in Microbiology*, 5, 383.
- Llarena-Perea, J.M. (2013). Efecto del uso del funguicida Tridemorph como alternativa en el control de *Sigakoa negra* (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet). Tesis de Licenciatura en Ciencias Agrícolas, Universidad Rafael Landívar. Guatemala, 55p.
- Llanera-Julio.pdf (url.edu.gt)
- Mosquera, O.M., Echeverry, L.M., Osorio, JN. (2009). Evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales sobre el hongo *Mycosphaerella fijiensis*. *Scientia et Technica*, 15, 41, 232-236.
- Okigbo, R.N., Emoghene, I.A. (2004). Antifungal Activity of Leaf Extracts of Some Plant Species on *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, The Causal Organism of Black Sigatoka Disease in Banana (*Musa acuminata*). *King Mongkut's institute of Technology Ladkrabang Science Journal Thailand*, 4, 20-31.
- Osorio-Salamanca, G.P. (2016). Evaluación de hongos endofíticos y extractos botánicos para el control de la Sigakota Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en banano. Tesis. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Costa Rica. <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/5095>.
- Pat-Fernández, V.G. Caamal-Cauich, I., Caamal-Pat, Z.H. (2017). Comportamiento y competitividad del mango de México en el mercado mundial. https://www.ecorfan.org/handbooks/Ciencias-ECOH-T_III/HCSEH_TIII_6.pdf.
- Pavón-Moreno, M.Á., González-Alonso, I., Martín-de Santos, R., García-Lacarra, T. (2012). Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 1772-1781.
- Pérez, L., Batlle, A., Hernández, A., Pérez, M., Trujillo, R., Álvarez, C. Méndez, A. (2003). Evolución de la sensibilidad a fungicidas de las poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en banano en Cuba. *Fitosanidad*, 7, 49-54.
- Pérez-Cordero, A., Rojas-Sierra, J., Chamorro-Anaya, L., Pérez-Palencia, K. (2011). Evaluación in vitro de la actividad inhibitoria de extractos vegetales sobre aislados de *Colletotrichum* spp. *Acta Agronómica*, 60, 158-164
- Rojo-Báez, I., Álvarez-Rodríguez, B., García-Estrada, R.S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., Allende-Molar, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichum* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35, 549-570.
- Sandoval-Chávez, R.A., Martínez-Peniche, R.Á., Hernández-Iturriaga, M., Fernández-Escartín, E., Arvizu-Medrano, S., Soto-Muñoz, L. (2011). Control biológico y químico contra *Fusarium stilboides* en pimiento morrón (*Capsicum annum* L.) en poscosecha. *Revista Chapingo: Serie horticultura*, 17, 161-172.
- Shuping, D.S.S., Eloff, J.N. (2017). The use of plants to protect plants and food against fungal pathogens: a review. *Africl Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 14,120-127.
- Smith-Barton, E., Velázquez-Villalta, M. (2004). Opciones Tecnológicas para la producción de plátano (*Musa AAB*) para exportación en la región atlántica de Costa Rica. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-9099.pdf>. Accesado el 04/03/2022

- Tapia, C., Amaro, J. (2014). Género *Fusarium*. Revista Chilena de Infectología, 31(1), 85-86.
- Veloso, J.S., Lima, W.G., Reis, A., Doyle, V.P., Michereff, S.J., Câmara, M.P.S. (2021). Factors influencing biological traits and aggressiveness of *Colletotrichum* species associated with cashew anthracnose in Brazil. *Plants Pathology*, 1, 167-180.
- Villa-Camacho, A.O. (2019). Control químico de Antracnosis (*colletotrichum* spp.) en flor y fruto en Lima 'Persa'. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agrohidráulica, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México, 38p.
<https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/fc1c5cd6-8c38-4709-af43-d757ff198de2/content>
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H.A., Basurto-Sotelo, M, Soto-Parra, J.M., Martínez-Escudero, E. (2015). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64, 194-205.
- Zaker, M., Mosallanejad, H. (2010). Antifungal activity of some plant extracts on *Alternaria alternata*, the causal agent of alternaria leaf spot of potato. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13, 1023-1029.

Tlamati Sabiduría



Biofertilizantes comercializados en México

Andrea Guadalupe Dionicio-Ocampo¹
Rubén Ricardo Nava-Franco¹
Angela Yaquelin Solís-López¹
Ketzalli Abigail Victoriano-Herrera¹
Alejandro Bolaños-Dircio²
Yanet Romero-Ramírez^{2*}

¹Programa Educativo de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Lázaro Cárdenas, S/N Ciudad Universitaria, 39070. Chilpancingo, Guerrero, México.

²Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental. Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Lázaro Cárdenas, S/N Ciudad Universitaria, 39070. Chilpancingo, Guerrero, México.

*Autor de correspondencia
yanetromero7@gmail.com.

Resumen

Los biofertilizantes son insumos que contienen microorganismos (bacterias y hongos principalmente) que aplicados a las plantas promueven su crecimiento y ayudan a la regeneración del suelo. Sin embargo, en México esta tecnología aún no ha sido transferida y la mayoría de los productores la desconoce. Por ello, el presente trabajo tuvo como objetivo conocer la variedad de los biofertilizantes comercializados en el territorio mexicano. Se generó un listado que muestra los productos actualmente disponibles para contribuir en la difusión de los beneficios de su uso a los agricultores, de manera que en el futuro se puedan llevar a cabo prácticas agrícolas más sostenibles a un menor costo.

Palabras clave: Biofertilizantes, Cultivos, Microorganismos, Hongos, Bacterias.

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Dionicio-Ocampo A. G., Nava-Franco R.R., Solís-López A. Y., Victoriano-Herrera K.A., Bolaños-Dircio A., Romero-Ramírez Y. (2023). Biofertilizantes comercializados en México. *Tlamati Sabiduría*, 15, 57-63.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; Publicado: 18 de agosto 2023



Abstract

Biofertilizers are inputs that contain microorganisms (mainly bacteria and fungi) that, when applied to plants, promote their growth and help regenerate the soil. However, in Mexico this technology has not yet been transferred and most producers are unaware of it. Therefore, the present work aimed to know the variety of biofertilizers marketed in the Mexican territory. A list was generated that shows the products currently available to help spread the benefits of their use to farmers, so that in the future more sustainable agricultural practices can be carried out at a lower cost.

Keywords: Biofertilizers, Crops, Microorganisms, Fungi, Bacteria

Introducción

En las décadas recientes se ha tomado conciencia del agotamiento de los elementos naturales debido a la explotación intensiva de los mismos (Rueda-Puente *et al.*, 2015). Los fertilizantes químicos son un derivado del petróleo, que han registrado aumentos desmesurados en sus precios, afectando con seriedad la estructura de los costos de productos agrícolas y, por otro lado, a los productores y consumidores en general (Mia *et al.*, 2010). Otro problema es que millones de hectáreas han quedado sin potencial agrícola; se ha agudizado uno de los grandes problemas nacionales: la erosión y la pérdida del suelo (Vanwallegem *et al.*, 2017). La agricultura en México es potencializada por el uso de fertilizantes químicos. Sin embargo, el uso desmedido ha provocado el deterioro de la fertilidad del suelo, procesos de eutrofización, cambios climáticos y daños al ambiente y a la salud humana (Song *et al.*, 2020). Esto ha inducido que la agricultura se enfoque en buscar soluciones adecuadas a estos problemas. Las nuevas tecnologías deben estar orientadas a mantener la sostenibilidad del sistema mediante la explotación racional de los recursos naturales y la aplicación de microorganismos para satisfacer las necesidades nutricionales que fertilicen el suelo a través de los biofertilizantes (Pereira y Castro, 2014). En ese sentido, los biofertilizantes son de gran importancia económica, pues podrían sustituir y/o minimizar productos químicos que son costosos.

Por lo tanto, el objetivo del trabajo se enfocó en la búsqueda de biofertilizantes comercializados en el país para conducir a un desarrollo económico sostenible para los agricultores.

Los biofertilizantes

Los microorganismos han sido utilizados en la agricultura desde tiempos remotos y han formado parte de los ecosistemas terrestres (Remy *et al.*, 1994). Los microorganismos del suelo utilizados en la agricultura han adquirido diferentes nombres que describen su función en las plantas como: inoculantes, fertilizantes bacterianos y, recientemente, biofertilizantes (Kapulnik y Okon, 2002). Los biofertilizantes son insumos que contienen células vivas o latentes de microorganismos eficientes que aceleran los procesos microbianos del suelo mejorando la asimilación de nutrientes por parte de las plantas (Vassey, 2003). Para aplicaciones agrícolas, los microorganismos más utilizados son las bacterias, los hongos, las algas y los actinomicetos (Mahanty *et al.*, 2016). Así mismo, resultan una herramienta excelente para el manejo integrado, pues garantizan la sostenibilidad de la producción agrícola en casi todos los tipos de suelo, pero con mayor respuesta en suelos de baja fertilidad (Ahmad *et al.*, 2013). Estos insumos pueden ser aplicados a las semillas, área foliar o al suelo para colonizar la rizosfera o el interior de la planta e inducir el crecimiento vegetal (Afanador, 2017). Una de las ventajas que ofrecen estos insumos radica en que son más económicos y de fácil

transportación para los productores, en comparación con los fertilizantes de origen químico (Kumar *et al.*, 2018).

Bacterias promotoras de crecimiento vegetal

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal son aquellas especies bacterianas que tienen la capacidad de promover el crecimiento y la salud vegetal de las plantas (Rout y Callaway, 2012; Zhou *et al.*, 2015). Los efectos de estimulación de estas bacterias pueden ocurrir de forma directa mediante la producción de compuestos fitoestimuladores (giberelinas y auxinas), fijación de nitrógeno y solubilización de fosfatos (Saleem *et al.*, 2007; Ahemad y Kibret, 2014; Beltrán, 2014) o indirecta mediante la síntesis de compuestos con actividad antibiótica o antifúngica que inhiben el crecimiento de fitopatógenos, lo que permite el desarrollo de las plantas hospederas (Ahmad *et al.*, 2008; Singh y Jha, 2015). Por estas características metabólicas versátiles, las BPCV tienen un potencial biotecnológico para la formulación de inoculantes; entre los que destacan los biofertilizantes (Saravan *et al.*, 2008). Las bacterias como *Rhizobium*, *Azotobacter* y *Bacillus* se reproducen *in vitro* y se impregnan en sustratos idóneos como turba, carbón vegetal, bagazo de caña, entre otros, para su comercialización. Los biofertilizantes a base de BPCV contienen millones de bacterias vivas o latentes por gramo o por mililitro (en caso de ser acuoso). Una vez que las semillas germinan y las raíces empiezan a desarrollarse, se multiplicarán y colonizarán las raíces.

Hongos micorrízicos

Los hongos micorrízicos representan un grupo de microorganismos edáficos que establecen simbiosis con varias especies vegetales de interés agrícola (Siddiqui y Futai, 2008). Entre los beneficios de esta asociación destacan: los efectos directos en la nutrición mineral, la inducción de tolerancia frente a condiciones de estrés biótico y abiótico, su participación en los procesos de fitorremediación y su contribución a la estabilidad del suelo (Gosling *et al.*, 2006). Por otro lado, el hongo del género *Trichoderma* es habitante

común en la rizosfera, tiene varios mecanismos a través de los cuales influye en el desarrollo de las plantas, tales como la producción de reguladores de crecimiento, la solubilización y absorción de P, Cu, Fe, Zn y Mn (Gagreda *et al.*, 2012). Además, activan mecanismos de defensa de la planta a nivel genético e incrementan la resistencia a enfermedades (Martínez-García y Pugnaire, 2011). En particular, esta característica ha sido ampliamente utilizada como control biológico contra diversos hongos fitopatógenos. La composición y dinámica de los hongos micorrízicos tiene un impacto sobre la estructura, diversidad y productividad de las comunidades vegetales con las que se asocia.

Biofertilizantes comercializados en México

La sustentabilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo debe fomentar el uso y manejo adecuado de los recursos internos de los agroecosistemas (MacPherson *et al.*, 2022). En este sentido, los biofertilizantes son una herramienta vital de los sistemas que constituyen un medio ecológicamente aceptable de reducir insumos externos y de mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos (Mahapatra *et al.*, 2022). En la tabla 1 se enlistan los diferentes biofertilizantes y los microorganismos que lo constituyen, se especifican características como los cultivos en los que se recomienda aplicar, los beneficios de los productos, la empresa que los produce, desde dónde operan y si son certificados. En México contamos con trece empresas (en su mayoría microempresas) que venden sus productos a precios accesibles a través de Internet o en instalaciones físicas pequeñas, entre un rango de \$74.00 MXN hasta \$899.00 MXN en productos de 1 kg (sujeto a cambios, de acuerdo con el peso del producto). Entre los géneros bacterianos que destacan son: *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus*. Cada país debe tener como tarea fundamental la formación y el entrenamiento del personal especializado, para que sea capaz de responder a las crecientes demandas de alimentos que se enfrentan con los modernos esquemas de producción agrícola que se basan en la sustentabilidad y la protección ambiental (Saeed *et al.*, 2021). Sin embargo, la

| Nombre | Compañía | Cer tifi cado | Microorganismos | Cultivos recomendados | Beneficios | Contacto |
|----------------------------|------------------------------------|---------------------|---|--|---|--|
| AzoFer | Biofábrica SIGLO XXI | Sí | <i>Azospirillum brasiliense</i> | Leguminosas | Recuperación de la fertilidad del suelo a largo plazo | https://biofabrica.com. mx/azofer-plus/ |
| MaxiFer | Biofábrica SIGLO XXI | Sí | <i>Azospirillum brasiliense</i> | Todo tipo de cultivos: agrícolas, frutales y ornamentales | Incrementa la rentabilidad y la sanidad del cultivo | https://biofabrica.com. mx/maxifer/ |
| RhizoFer | Biofábrica SIGLO XXI | Sí | <i>Rhizobium etli</i> | Todo tipo de leguminosas | Fija nitrógeno a las raíces | https://biofabrica.com. mx/rhizofer/ |
| Micorrizafer Plus | Biofábrica SIGLO XXI | Sí | <i>Rhizophagus</i> (antes <i>Glomus intraradices</i>) | Todo tipo de cultivos agrícolas | Incrementa la materia orgánica del suelo. Incrementa la sanidad del cultivo | https://biofabrica.com. mx/micorrizafer/ |
| BIOCOMPOSTA | Biofábrica SIGLO XXI | Sí | <i>Azospirillum brasiliense</i> y <i>Glomus</i> | Para todo tipo de cultivos | Aumenta el desarrollo de la raíz, recupera la fertilidad y la estructura del suelo | https://biocompost.net/ |
| MYCO FUNGI | Mutainside orgánicos, México | Sí | <i>Glomus intraradices</i> / <i>Rhizophagus irregularis</i> | Ideal para todo tipo de cultivo | Estimulan el desarrollo de otros microorganismos benéficos del suelo, lo que permite recuperar la actividad biológica | Pelhate (1973) |
| BOKASHI: | GreenCorp, México | Sí | <i>Bacillus</i> y microorganismos eficientes | Ideal para todo tipo de cultivo agrícola | Restaura la comunidad microbiana en agroecosistemas degradados y mejora la productividad general de los cultivos | https://greencorp.mx/p roducto/biofertilizante s/ |
| ProPlant Root | GreenCorp, México | Sí | <i>Pseudomonas flourecen</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Streptomyces lydicus</i> , <i>Streptomyces griseus</i> , <i>Rhodospirillum rubrum</i> , <i>Rhodopseudomona s palustris</i> | Ideal para todo tipo de cultivo agrícola. | Suprime patógenos fúngicos comunes, mejora de forma natural la vitalidad y el crecimiento de las plantas | https://mountainsideor ganicos.com/products/ proplant-uptake- microorganismos- eficientes-soluble-en- dextrosa |
| TRIBUS ORGANIAL | GreenCorp, México | Sí | <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. amyloliquefaciens</i> , <i>B. pumilus</i> | Ideal para todo tipo de cultivo agrícola | Asegura resultados | https://mountainsideor ganicos.com/products/ tribus-biostimulant- impello-biosciences |
| Azoton AA Plus | GreenCorp, México | Sí | <i>Azospirillum spp.</i> <i>Azotobacter spp</i> | Ideal para cultivos extensivos, hortalizas, frutales y ornamentales | Favorecen la fijación de nitrógeno y la disponibilidad de fósforo | https://greencorp.mx/p roducto/biofertilizante s/azoton-aa/ |
| Fosfinn Biol | GreenCorp, México | Sí | Hongos solubilizadores de fósforo | Para hortalizas, frutales, granos, cereales y cultivos industriales | Favorecen la disponibilidad de calcio, zinc, hierro y fósforo. El producto actúa tanto en condiciones de pH alcalinos como ácidos | https://greencorp.mx/p roducto/biofertilizante s/fosfinn-biol/ |
| Biomatrix TS HE | GreenCorp, México | Sí | <i>Beauveria</i> y <i>Metarhizium</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Azospirillum</i> , <i>Pseudomonas</i> y <i>Bacillus</i> | Semillas de maíz, sorgo, trigo, avena, cebada y triticale | Coadyuva a la protección de las raíces y disminuye la presión y población de hongos fitopatógenos y plagas en el suelo | https://greencorp.mx/p roducto/biofertilizante s/biomatrix-tshe/ |

| | | | | | | |
|-------------------------------------|----------------------------------|----|--|---|--|---|
| MMB 10 | Symborg, España | ND | <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Agrobacterium pusense</i> , <i>Ochrobactrum pseudogrignonense</i> y <i>Meyeroryma guilliermondii</i> | Para cultivos hortícolas de invernadero. | Optimiza el aporte de fertilizantes y de agua a las plantas, evita la degradación de suelos, incrementa la actividad biológica en la rizosfera, favorece el crecimiento y rendimiento de los cultivos agrícolas | https://symborg.com/cl/biofertilizantes/mbb-10/ |
| BlueN | Symborg, España | ND | <i>Methylobacterium symbioticum</i> SB23 | Arroz, colza, algodón, soja, sorgo | Fija el nitrógeno atmosférico convirtiéndolo en amonio | https://symborg.com/mx/biofertilizantes/blueen/ |
| BACTISHOK | Jardines Sostenibles, México | ND | <i>Bacillus subtilis</i> BsJS09 | Recomendado para todo tipo de plantas | Secreta proteínas y metabolitos que inhiben el desarrollo de hongos fitopatógenos, descomponen la materia orgánica transformándola en compuestos ricos en fósforo | https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-840788717-bacillus-subtilis-biofertilizante-y-fungicida-biologico-900g-_JM |
| BioVIGORS | SIL AGRO, México | ND | <i>Glomus intraradices</i> , <i>G. brasilanum</i> , <i>G. etunicatum</i> , <i>Gigospopra margarita</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Gliocladium virens</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> | Ideal para cualquier tipo de cultivo | Estimula el crecimiento de la raíz: no es tóxico y no irrita la piel | https://www.silagro.com.mx/producto/biovigors-s-de-silagro/ |
| Silico 1K + Micorriza Suppra | Suppra, México | Sí | <i>Glomus</i> , <i>Paraglomus</i> , <i>Aucalospora</i> , <i>Entrophospora</i> | Ideal para jardinería, huerto en casa, agrícola, pastos, hortalizas, ornamentales. Es compatible con el 98% de los cultivos en México | Ayuda a superar toxicidad por metales como Al, Cd, As; previene la compactación del suelo; disminuye estrés por calor; genera flavonoides y fitoalexinas, reduce el crecimiento y reproducción de insectos; promueve la resistencia vegetal a altas y bajas temperaturas | https://micorrizassuppra.mercadoshops.com.mx/MLM-936839516-silico-1k-micorriza-suppra-2k-tierra-diatomeasenraizante-_JM |
| Glumix | COMERCIALIZADORA AGRILAP, México | Sí | <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Glomus spp.</i> , <i>Trichoderma spp.</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus mucilaginosus</i> | Apto para todo tipo de cultivo | Alta asimilación de fósforo; nitrógeno, potasio, calcio y microelementos; reduce el estrés causado por sequía, mayor resistencia a enfermedades y plagas | https://www.biokrone.com/biofortificantes/glumix-polvo/ |
| Micorrizas. | Semvid. Grow Depot México | Sí | <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Glomus spp.</i> , <i>Trichoderma spp.</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus mucilaginosus</i> | Apto para todo tipo de cultivo | Incrementa la actividad fisiológica de las plantas, desde la germinación, incrementa los rendimientos y la calidad de la cosecha, reduce el ataque de patógenos, inducen tolerancia a condiciones de estrés | https://growdepotmexico.com/ |
| FERFOMAX+BIO | ORO VERDE, México | ND | <i>Trichoderma</i> , Micorrizas y <i>Bacillus</i> | Árboles frutales, ornamentales, para esquejes, granos y hortalizas | Impulsa el desarrollo de raíces y engrosamiento de tallos. Favorece la germinación de las semillas | https://listado.mercadolibre.com.mx/ferfomax-bio |

| | | | | | | |
|------------------------------|---|----|---|--|--|---|
| Terrasabvia | Mani Dharma Biotech Pvt. Ltd., EAU (Emiratos Árabes Unidos) | Sí | <i>Rhizobium</i> | Frijol de soya | Fijador de nitrógeno | http://mx-terrasabvia.com/ |
| AgriLife Nitrofix®-GD | Bannari Amman Sugars Limited, India | ND | <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> | Apto para todo tipo de cultivo | Fija el nitrógeno atmosférico, secreta fitohormonas (auxinas y giberelinas) que ayudan en el crecimiento de los cultivos | https://www.agrilife.in/products/agrilife_nitrofix_gd.php |
| Biofertilizantes | Biojal, México | Sí | <i>Azospirillum brasilense</i> | Ideal para todo tipo de cultivo agrícola | Fija el nitrógeno atmosférico, mejora el vigor y la salud de las plantas | http://www.biojal.com/ |

Tabla 1. Relación de biofertilizantes en México. Fuente: Recopilado de una búsqueda en plataformas de venta de productos agrícolas.

tarea de educar y entrenar a los productores agrícolas para que conozcan acerca de los beneficios que pueden lograr y cómo deben realizar las aplicaciones de los biofertilizantes es difícil debido a que en varios lugares del país no existe la demanda necesaria de especialistas ni el interés por los aspectos prácticos de la utilización de estos insumos.

Conclusiones

El uso de biofertilizantes a gran escala traería grandes beneficios para cualquier sistema de producción agrícola, sin tener efectos negativos sobre el ambiente. Es importante sumar esfuerzos para la difusión de este campo de la biotecnología, con el fin de desarrollar prácticas de agricultura más sustentables.

Referencias

- Afanador, B.L.N. (2017). Biofertilizantes: conceptos, beneficios y su aplicación en Colombia. *Ingeciencia*, 2, 69.
- Ahemad, M., Kibret, M., (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26, 1-20.
- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for the is multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 163, 173-181.
- Ahmad, F., Uddin, S., Ahmad, N., Islam, R. (2013). Phosphorus-microbes interaction on growth: yield and phosphorus-use efficiency of irrigated cotton. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 59, 341-351.
- Beltrán, P.M.E. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15, 101-113.
- Gagreda, O.A., Díaz, A., Peña, J.J., Vera, J.A. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3, 1261-1274.
- Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G., Bending, G.D. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystem & Environment*, 113, 17-35.
- Kapulnik, Y., Okon, Y. (2002). Plant growth promoting by rhizosphere bacteria. *In* Y. Waisel, A. Eshel, T.Beeckman, U. Kafkafi. *Plant roots: The Hidden Half*, Taylor and Francis Group, 869-895.
- Kumar, S., Reddy, C., Phogat, M., Korav, S. (2018). Role of bio-fertilizers towards sustainable agricultural development: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7, 1915-1921.
- MacPherson, J., Voglhuber-Slavinsky, A., Olbrisch, M., Schöbel, P., Dönitz, E., Mouratiadou, I., Helming, K. (2022). Future agricultural systems and the role of digitalization for achieving sustainability goals.

- A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 42, 70.
- Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., Tribedi, P. (2016). Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 3315-3335.
- Mahapatra, D.M., Satapathy, K.C., Panda, B. (2022). Biofertilizers and nanofertilizers for sustainable agriculture: Phycoprosects and challenges. *Science of the Total Environment*, 803, 149990.
- Martínez-García, L.B., Pugnaire, F.I. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi host preference and site effects in two plant species in a semiarid environment. *Applied Soil Ecology*, 48, 313-317.
- Mia, M.A.B., Shamsuddin, Z.H., Mahmood, M. (2010). Use of plant growth promoting bacteria in banana: a new insight for sustainable banana production. *International Journal of Agriculture and Biology*, 12, 459-467.
- Pelhate, J. (1973). *Annales Technologie Agricole*, 22, 647-661.
- Pereira, S.I., Castro, P.M. (2014). Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance *Zea mays* growth in agricultural P-deficient soils. *Ecological Engineering*, 73, 526-535.
- Remy, W., Taylor, T.N., Hass, H., Kerp, H. (1994). Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhiza. *Proceedings of the National Academy of Science*, 91, 11841-11843.
- Rout, M. E., Callaway, R.M. (2012). Interactions between exotic invasive plants and soil microbes in the rhizosphere suggest that everything is not everywhere. *Annals of Botany*, 110, 213-222.
- Rueda-Puente, E.O., Ortega-García, J., Barrón-Hoyos, J.M., López-Elías, J., Murillo-Amador, B., Hernández-Montiel, L.G. (2015). Los fertilizantes biológicos en la agricultura. *Invernus*, 10,10-17.
- Saeed, Q., Xiukang, W., Haider, F.U., Kučerik, J., Mumtaz, M.Z., Holatko, J., Naseem, M., Kintl, A., Ejaz, M., Naveed, M., Brtnicky, M., Mustafa, A. (2021). Rhizosphere bacteria in plant growth promotion, biocontrol, and bioremediation of contaminated sites: A comprehensive review of effects and mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 10529.
- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., Bathi, A.S. (2007). Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34, 635-648.
- Saravanan, V.S., Madhaiyan, M., Osborne, J., Thangaraju, M., Sa, T.M. (2008). Ecological occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and nitrogen-fixing *Acetobacteraceae* members: their possible role in plant growth promoting. *Microbial Ecology*, 55, 130-140.
- Siddiqui, Z.A., Futai, K. (2008). Mycorrhizae: an overview. *In: Siddiqui, Z.A., Akhtar, M.S., Futay, K. (Eds) Mycorrhizae Sustainable Agriculture and Forestry*. 1st. Ed. Springer. Dordrecht, 1-35.
- Singh, R.P., Jha, P.N. (2015). Molecular identification and characterization of rhizospheric bacteria for plant growth promoting ability. *International Journal of Current Biotechnology*, 3, 12-18.
- Song, L., Drewer, J., Zhu, B., Zhou, M., Cowan, N., Levy, P., Skiba, U. (2020). The impact of atmospheric N deposition and N fertilizer type on soil nitric oxide and nitrous oxide fluxes from agricultural and forest Eutric Regosols. *Biology and Fertility of Soils*, 56, 1077-1090.
- Vanwalleghem, T., Gómez, J.A., Infante-Amate, J., González de Molina, M., Vanderlinden, K., Guzmán, G., Laguna, A., Giráldez, J.V. (2017). Impact of historical land use and soil management on soil erosion and agricultural sustainability during the Anthropocene. *Anthropocene*, 17, 13-29.
- Vassey, J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571-586.
- Zhou, D., Huang, X.F., Chaparro, J.M., Badri, D.V., Manter, D.K., Vivanco, J.M., Gou, J. (2015). Root and bacterial secretions regulate the interaction between plants and PGPR leading to distinct plant growth promotion effects. *Plant and Soil*, 401, 259-272.

Tlamati Sabiduría



***Argemone mexicana*: una alternativa para el control de mosquitos vectores (Díptera: Culicidae) de importancia médica**

Diana Monserrath Osorio-Palacios¹
Itzel Celic Evaristo-Ortiz¹
Cielma Jazmin Alfaro-Campos¹
Dalia Vanesa Ignacio-Díaz¹
Cinthia Moya-Álvarez¹
Rebeca Salazar-Dorantes¹
Erika Jaqueline de Jesús-Reyes¹
Leticia Lucena¹
César Sotelo-Leyva^{1*}

¹Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas s/n, Ciudad Universitaria Sur, 39070, Chilpancingo, Guerrero, México.

*Autor de correspondencia

cesarsotelo@uagro.mx

Resumen

Los mosquitos vectores son insectos voladores comunes que se encuentran distribuidos en la mayor parte del mundo. Los mosquitos vectores de importancia médica pertenecen a la familia Culicidae, y abarcan actualmente 3,556 especies. Las principales especies pertenecen a tres géneros: *Anopheles*, *Aedes* y *Culex*, los cuales son transmisores de distintas enfermedades como: el virus del dengue, la chikungunya, la fiebre amarilla, el virus del Nilo Occidental y malaria. Dentro del control químico se utilizan insecticidas que son eficaces para su control. Diversas investigaciones han tomado como alternativa el uso de plantas medicinales para la prevención de la reproducción de los mosquitos vectores. Existe una variedad de plantas

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Osorio-Palacios D.M., Evaristo-Ortiz I. C., Alfaro-Campos C. J., Ignacio-Díaz D. V., Moya-Álvarez C., Salazar-Dorantes R., de Jesús-Reyes E. J., Lucena L., Sotelo-Leyva C. (2023). *Argemone mexicana*: una alternativa para el control de mosquitos vectores (Díptera: Culicidae) de importancia médica. *Tlamati Sabiduría*, 15, 64-73.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; *Publicado:* 18 de agosto 2023



medicinales, siendo *Argemone mexicana* una planta de interés ya que contiene metabolitos secundarios que han demostrado bioactividad contra diversos insectos. En este trabajo de investigación se presenta la actividad insecticida de extractos de la *A. mexicana* contra los mosquitos vectores (Díptera: Culicidae). Se informa la parte de la planta utilizada, solvente utilizado, especie de mosquito vector, tipo de bioensayo, metodología, resultados y metabolitos secundarios identificados.

Palabras clave: Mosquitos vectores, *Argemone mexicana*, Vectores, Plantas, Díptera, Metabolitos.

Abstract

Mosquito vectors are common flying insects that are distributed in most parts of the world. Mosquito vectors of medical importance belong to the Culicidae family, currently comprising 3,556 species. The main species of vector mosquitoes belong to three genera: *Anopheles*, *Aedes* and *Culex*, which transmit different diseases among the main diseases transmitted by these dipterans are: dengue virus, chikungunya, yellow fever, West Nile virus and malaria. Within the chemical control, insecticides are used that are effective for their reduction, due to their already known toxic effects on human health and the environment. Various investigations have taken as an alternative the use of medicinal plants for the prevention of the reproduction of vector mosquitoes. There is a variety of medicinal plants, *Argemone mexicana* being the most important, since it already has secondary metabolites. In this review, the insecticidal activity of extracts from the *A. mexicana* plant against the mosquito vector (Diptera: Culicidae) is presented, the part of the plant used, the solvent used, the type of mosquito vector with which it presents larvicidal activity, are reported. type of bioassay, methodology, results and identified metabolites.

Key words: Mosquitoes vectors, *Argemone mexicana*, plants, Diptera, Metabolites.

Introducción

Los mosquitos vectores pueden transmitir diversos microorganismos patógenos, incluidos arbovirus, protozoos y filarias, los cuales causan enfermedades infecciosas que ponen en riesgo la salud pública (Becker *et al.*, 2010). Pertenecen principalmente a tres géneros: *Anopheles*, *Aedes* y *Culex*. El género *Anopheles* comprende 488 especies de las que derivan 60 especies con importancia médica, pues transmiten la malaria, la filariasis linfática y los arbovirus (Camevale *et al.*, 2009). El género *Aedes* incluye mosquitos vectores de arbovirus, incluidos los virus de la fiebre amarilla, el dengue, el chikungunya, la fiebre del valle del Rift y el Zika (Caglioti *et al.*, 2013). Por otro lado, el género *Culex* incluye diversos vectores para la microfilaria *Wuchereria bancrofti* y los flavivirus (Weaver y Reisen, 2010). Existen diversas medidas para el control de enfermedades para mosquitos vectores, como los

mosquiteros insecticidas de larga duración y la fumigación de interiores con efecto residual que son dirigidos contra los mosquitos vectores (WHO, 2013). La inhibición de la población de vectores ha sido uno de los principales avances para reducir la transmisión de enfermedades a través de métodos químicos y no químicos (Wilson *et al.*, 2020). Sin embargo, el uso de insecticidas contra adultos y larvas provocó una resistencia a los insecticidas en las poblaciones de los vectores (García *et al.*, 2018). Por su parte, algunos de estos insecticidas tienen efectos tóxicos en el ser humano, por vía oral respiratoria, causando daños en la vía respiratoria y pulmonar (Muñoz-Quezada *et al.*, 2016). Por lo que el presente trabajo busca promover alternativas de plantas medicinales a través de *Argemone mexicana* para el control de mosquitos vectores, toda vez que son seguros para el medio ambiente y no son tóxicos para los organismos no objetivo.

Se ha demostrado que *A. mexicana* tiene actividad larvívora, ovívora y pupívora contra los mosquitos vectores a través de extractos de tallo, hojas y semillas. Es probable que la variedad de tipos y niveles de constituyentes bioactivos en cada extracto puedan ser responsables de su potencial variable contra los mosquitos vectores, por lo cual se recomienda establecer investigaciones a fondo.

Mosquitos vectores (Díptera: culidae)

Los mosquitos son insectos voladores comunes que se encuentran distribuidos en la mayor parte del mundo. Hay más de 3,500 tipos de mosquitos a nivel mundial y algunos de estos pueden ser vectores, propagando patógenos (microbios) a las personas y los animales (CDC, 2020). Las enfermedades transmitidas por vectores (ETVs) tienen un alto impacto sobre la salud pública de diversas comunidades, la única manera de prevenir estas enfermedades es evitar el contacto entre vectores y humanos, puesto que en la actualidad no existe una vacuna para todas las enfermedades que los vectores pueden transmitir (Gorla, 2021).

Principales especies de mosquitos vectores

Los mosquitos de importancia médica pertenecen a la familia Culicidae, que engloba actualmente 3,556 especies, los géneros con mayor importancia médica son *Anopheles*, *Aedes* y *Culex* (Ulloa, 2019). Los mosquitos que pertenecen al género *Aedes*, son los vectores dominantes de la mayoría de los arbovirus que infectan tanto a humanos y a animales; están presentes en todo el mundo (Europa mediterránea, África, Asia, América, Pacífico Occidental) aunque la mayor diversidad se encuentra en las regiones Neártica y el viejo mundo (Portillo *et al.*, 2018). Los vectores que destacan por su incidencia sanitaria son a *Aedes albopictus* o *Aedes aegypti* (Ulloa, 2019).

Principales enfermedades transmitidas por mosquitos vectores

Los mosquitos vectores pueden transmitir distintos patógenos, que provocan enfermedades responsables de una gran tasa de morbilidad y mortalidad humana en todo el mundo; también se

considera que transmiten, aunque en menor medida, enfermedades bacterianas (Tandina *et al.*, 2018). Existen diversas enfermedades que son transmitidas por mosquitos vectores, una de las más importantes es el dengue, es una enfermedad arboviral grave de Asia, América del Sur y Central y África, aunque cuenta con una baja mortalidad, presenta síntomas muy debilitantes, *Aedes aegypti* y *Ae. albopictus* son los vectores comunes del dengue, se les considera de fácil adaptación por lo que pueden proliferar fácilmente en nuevas áreas (Rueda, 2008). El virus del dengue tiene serotipos y cuando un individuo se infecta se vuelve inmune para ese serotipo (Hobart *et al.*, 2018). El chikungunya es una de las enfermedades transmitidas por mosquitos que no llega a causar mortalidad, sin embargo, afecta a personas en más de 60 países, aunque no es grave, del 87% al 95% de las personas que llegan a presentarla, sufren artralgia, que puede persistir durante años; sus principales vectores son *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (Hobart *et al.*, 2018). La fiebre amarilla también es una enfermedad que se transmite principalmente por *Ae. Aegypti*, siendo importante en África, América del Sur y América Central, con alrededor de 200,000 casos y 30,000 muertes en 33 países cada año (Rueda, 2008). El virus del Nilo Occidental es una enfermedad transmitida principalmente por mosquitos del género *Culex*, en particular *Culex pipiens* (OMS, 2017). Se ha propagado desde África (Uganda) en 1937 hacia Europa y el oeste y el centro de Asia y se encuentra muy extendida en los Estados Unidos, Canadá, México y las islas del Caribe (Kramer *et al.* 2008). Así mismo, la malaria es una enfermedad muy grave que afecta a alrededor del 40 % de la población mundial, principalmente en las zonas tropicales y subtropicales; *A. gambiae*, es el vector más importante de la malaria en África, aunque se considera que es el mayor responsable de la transmisión y mortalidad de esta enfermedad (Beerntsen *et al.*, 2000). Otros mosquitos vectores pueden transmitir varios patógenos, incluidos arbovirus, protozoos y filarias que causan enfermedades infecciosas como: Fiebre de Oropuche, Mansonelosis, Malaria, Filariasis, Tripanosomiasis, Leishmaniasis, Bartonelosis, Estomatitis

vesicular, Oncocercosis, Loiasis, y Tularemia (Portillo *et al.*, 2018). Una de las causas que ha agravado la propagación de las enfermedades por mosquitos es el cambio climático, esto ha causado cambios en su distribución, lo cual ocasionaría que se presenten más casos de enfermedades humanas (Andrade-Ocha *et al.*, 2017).

Control químico

Los mosquitos vectores tienen una gran importancia médica. Debido a su reproducción, implica una serie de enfermedades para la salud humana, siendo los principales vectores de enfermedades de orden vírico (López-Solís *et al.*, 2020). Es por ello que se llevan a cabo alternativas para combatir su expansión y que sirven como métodos de control, estas se clasifican en: manejo ambiental, control químico, control biológico, protección personal y manejo integrado (Wilson *et al.*, 2017).

Dentro del control químico se utilizan insecticidas que son eficaces para su disminución, pero tienen una gran desventaja en la salud humana debido a que tienen efectos tóxicos. Los insecticidas son compuestos químicos utilizados para controlar o matar insectos portadores de enfermedades. Para el caso de insectos vectores, los insecticidas pueden además de evitar el contacto de los insectos con el humano, disminuir su propagación, y están dirigidos a cualquiera de sus estadios de desarrollo (huevo, larva, pupa, adulto). Están disponibles de formas diferentes, las cuales incluyen polvos humectables, aerosoles, gases, gránulos, soluciones oleosas, concentrados emulsionables, tratamientos de semillas, aerosoles líquidos a base de aceite, concentrado de nebulización, líquidos de ultra bajo volumen y aerosoles de volumen ultra bajo (Van den Berg *et al.*, 2021). De acuerdo con su composición química, acción toxicológica o método de penetración, los insecticidas se clasifican en orgánicos (contienen carbono) e inorgánicos (Farag *et al.*, 2021). Los insecticidas orgánicos incluyen compuestos organofosforados (como el malatión), compuestos organoclorados (como el DDT), carbamato, piretroides sintéticos, reguladores del crecimiento de insectos y fumigantes (Mills *et al.*, 2018). La sílice y el ácido

bórico son dos tipos de insecticidas inorgánicos. El primero es un agente desecante que absorbe la capa cerosa de los insectos, llevándolo a la deshidratación y asfixia, este tipo de insecticida es ligero, blanco y esponjoso. El ácido bórico, mientras tanto, es una cera de absorción, así como un veneno estomacal, cuando se mantiene seco y se coloca en los lugares apropiados en la concentración adecuada, es útil en el control de insectos (Moyes *et al.*, 2017).

Los tipos de aplicación de insecticidas más comunes son: a) el rociado intradomiciliario con insecticidas residuales, b) el tratamiento de materiales con insecticidas, c) el rociado o nebulización espacial y d) la aplicación de larvicidas (Farag *et al.*, 2021). El método más utilizado es el rociado acaso probable (RCP); es dirigido sobre la base de los casos probables de enfermedades que son notificadas por sectores de salud aplicándose como termo nebulizador (nebulización térmica) en áreas de alta concentración poblacional, como iglesias, escuelas, panteones, balnearios, etcétera (Maha, 2019).

Impacto al medio ambiente

A pesar de que menos del 1% de las 4,200 especies de insectos que atacan frutales de importancia económica, los tefrítidos se ubican entre las diez plagas de mayor importancia para la fruticultura en México, limitando la producción y comercialización de los productos frutícolas, además de los daños causados directamente a los frutos, provocan daños indirectos como el incremento de los costos de producción y demerito de la calidad del fruto, lo que repercute de manera directa en la economía del agricultor. Para el control de mosca de la fruta se han empleado de forma tradicional cebos tóxicos, a base de una mezcla de un insecticida de origen químico y un atrayente alimenticio. Los insecticidas químicos, como el malatión, han sido utilizados tradicionalmente para el control de la mosca de la fruta. Sin embargo, estos tratamientos presentan una serie de inconvenientes, tales como la contaminación del ambiente, peligro para las personas que lo aplican, necesidad de períodos cuarentenarios antes de comercializar el producto,

así como resistencia en los insectos plaga (Brenner, 1992).

En los últimos años, el control químico de la mosca de la fruta se ha visto afectado por las restricciones en el uso de plaguicidas organofosforados, lo que ha generado la necesidad de desarrollar y evaluar alternativas de menor impacto ambiental, buscando métodos alternativos de manejo de plagas que tienen como propósito encontrar técnicas que permitan manejar la resistencia de las mismas a los insecticidas orgánicos, así como estrategias que proporcionen una alternativa de manejo que evite la eliminación de enemigos naturales y la contaminación de los agroecosistemas (Rodríguez y López, 2001).

En la actualidad se ha enfatizado la búsqueda de medios de control basados en la actividad insecticida de las plantas, pues la mayoría de ellas producen metabolitos secundarios, como: fenoles, treptenoides, alcaloides, ácidos carboxílicos y ácidos grasos, con propiedades insecticidas, que pueden aprovecharse mediante la preparación de extractos acuosos o infusiones para el control de insectos nocivos (Avalos y Perez-Urrial 2009).

Los productos vegetales para el control de plagas que afectan a los cultivos frutícolas son una buena opción para los agricultores, toda vez que son considerados como promotores de la inocuidad de frutas frescas y secas, al ser aplicados de manera exógena, o bien al promover su actividad mecánica ante el estrés biótico, puesto que al ser biodegradables no afectan el medio ambiente y evitan el desarrollo de la resistencia en los insectos (Sotelo-Leyva *et al.*, 2020). Por otra parte, los productos químicos de bajo impacto ambiental, también forman parte del manejo alternativo de plagas que afectan al sector frutícola. Entre estos productos, los colorantes fotoactivos, en particular el Floxin-B fue una de las primeras opciones evaluadas para sustituir el uso del malatión en el control químico de la mosca de la fruta (Torija-Torres *et al.*, 2014).

Impacto en la salud de los humanos

Los insecticidas presentan serios riesgos para la salud derivados de la exposición de los usuarios. Las principales vías por las cuales ingresan al

cuerpo humano son: dérmica, oral, ocular y respiratoria (inhalación). La distribución en el cuerpo humano es a través del torrente sanguíneo y excretados vía la orina, la piel y el aire exhalado. Asimismo, la peligrosidad de la exposición aumenta dependiendo de la concentración y la toxicidad del plaguicida (Kim *et al.*, 2017).

Las formas en que los insecticidas afectan a la salud humana pueden ingresar al cuerpo de dos formas: la exposición oral produce un envenenamiento severo, resultado de la ingesta de plaguicida. Los casos más frecuentes se deben por la transferencia de plaguicidas o insecticidas a un recipiente de comida, tomar algún líquido en botellas contaminadas por plaguicidas o por no lavarse las manos después de haber manejado plaguicidas. Exposición respiratoria: La exposición es alta debido a la presencia de componentes volátiles que pueden causar daños en la nariz, garganta y tejidos pulmonares (Muñoz-Quezada *et al.*, 2016). El riesgo de exposición depende del tamaño de la gota de pulverización, a menor tamaño de gota el riesgo es mayor que a mayor tamaño de gota. Otro factor que aumenta el riesgo es la temperatura, pues a mayor temperatura, mayor evaporación, provocando un riesgo alto de envenenamiento (Kim *et al.*, 2017).

Estudios indican que el uso de plaguicidas puede estar relacionado con diversas enfermedades como cáncer, leucemia, Parkinson, asma, neuropsicológicos y cognitivos, etc. (Mills *et al.*, 2018). Además, señala que el impacto en la salud va a depender de la exposición, concentración, y grupo etario como niños, mujeres embarazadas, trabajadores agrícolas y tercera edad (Loha *et al.*, 2018).

Plantas medicinales

La vida humana depende de las plantas, además de los nutrientes básicos como las proteínas, las grasas o los hidratos de carbono. Las plantas son fuente de productos farmacéuticos, cosméticos, ingredientes alimentarios agroquímicos, insecticidas y pigmentos. Nos proporcionan oxígeno, regulan temperatura y la humedad ambiental, son capaces de fabricar su propio alimento, así como también forman un componente importante de atención de la salud mundial, porque se utilizan

como fuente principal de tratamiento (Alfermann y Petersen, 1995).

Las plantas son parte importante de todos los organismos vivos, toda vez que proporcionan diferentes tipos de productos como frutas, cortezas, hojas y medicamentos. Cerca del 80% de los compuestos de especies vegetales se utilizan como medicina. También han desarrollado estrategias de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico, estas incluyen el desarrollo de estructuras contra sus depredadores, tales como las espinas, las espigas, los pelos glandulares (Jiménez *et al.*, 2003).

Los estudios de expresión de genes de plantas bajo diferentes condiciones de estrés biótico y abiótico son importantes porque son una estrategia para comprender, a nivel molecular, cómo las plantas actúan en fenómenos de resistencia a patógenos y condiciones abióticas de crecimiento, lo que puede ampliar el conocimiento sobre los mecanismos moleculares de defensa a estos tipos de estrés en las plantas (Rico-Guerrero *et al.*, 2004). Las plantas medicinales son ampliamente empleadas en medicina domiciliaria y fitoterapia en zonas rurales, a menudo por comunidades indígenas, así como también tienen una gran cantidad de sustancias que, usadas adecuadamente, puede tratar todo tipo de afecciones o reforzar nuestro organismo de distintas formas para prepararnos ante ataques de patógenos o ante la degeneración acelerada de las células (Pulido, 2008).

Metabolitos secundarios (MS)

Son compuestos que no son esenciales para la supervivencia pero que confieren ventajas para las células vegetales. Los MS son compuestos de bajo peso molecular que tienen un papel importante en las interacciones ecológicas; una síntesis activa de MS se produce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas como: el consumo por herbívoros (artrópodos y vertebrados), el ataque por microorganismos: virus, bacterias y hongos, la competencia por el espacio del suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas. Y la exposición a la luz solar o factores ambientales que alteran los procesos fisiológicos y metabólicos de las plantas.

También reciben el nombre de productos naturales y cuentan con valor medicinal, económico y en las últimas décadas con un gran desarrollo (Croteau *et al.*, 2000).

Los MS de plantas suelen clasificarse según su estructura química, en varios grupos de moléculas grandes, incluidos los ácidos fenólicos y los flavonoides, los terpenoides, los esteroides y los alcaloides, se han implicado en la activación y el refuerzo de los mecanismos de defensa en las plantas con notables actividades biológicas. Los MS de plantas se utilizan cada vez más como ingredientes de medicamentos y aditivos alimentarios con fines terapéuticos, aromáticos y culinarios. Varios factores genéticos, ontogénicos, morfogenéticos y ambientales pueden influir en la biosíntesis y acumulación de MS. La acumulación de MS depende en gran medida de una variedad de factores ambientales, como la luz, la temperatura, el agua del suelo, la fertilidad del suelo y la salinidad, y para la mayoría de las plantas, un cambio en un factor individual puede alterar el contenido de MS incluso si otros factores permanecen constantes. Las plantas medicinales tienen dos tipos de metabolitos uno de los cuales es primario y otro secundario. Primario: los metabolitos están involucrados en todos los procesos de forma directa. Muchos metabolitos secundarios tienen funciones medicinales y no participan directamente en los procesos metabólicos (Croteau *et al.*, 2000).

La relación entre el metabolito secundario de las plantas y la respuesta de defensa es muy reconocida. Las plantas responden al ataque de patógenos, insectos y herbívoros, otros bióticos y estrés abiótico mediante la activación de una serie de mecanismos de defensa que incluyen la inducción de la biosíntesis de metabolitos como fitoalexinas, respuestas hipersensibles y barreras defensivas estructurales. Así mismo, y como parte de la protección química, es otra estrategia utilizada por las plantas, con actividad antioxidante, antibacteriana, antifúngica, nematocida y farmacológica (Jiménez *et al.*, 2003). En la Tabla 1 se muestra el potencial larvicida de *A. mexicana* contra mosquitos

| Parte de la planta | Solventes | Mosquito Vector | Bioensayo | Metodología | Resultados | Metabolitos Identificados | Referencia |
|--------------------|------------------|-------------------------------|-----------|---------------------|-----------------|-----------------------------------|---|
| Semilla | Acetona | <i>Aedes aegypti</i> | Larvicida | Contacto a 10 ppm | 100% en 24hrs | NI | Sakthivadivel y Thilagavathy, (2003) |
| Hojas | Metanol | <i>Culex quinquefasciatus</i> | Larvicida | Contacto | 2.5% en 72 h | NI | Sharma <i>et al.</i> (2009) |
| Semilla | Acetona | <i>Aedes aegypti</i> | Larvicida | Contacto a 10 ppm | 24% en 24-48 h | NI | Elango <i>et al.</i> (2011) |
| Tallo | Éter de petróleo | <i>Aedes aegypti</i> | Larvicida | Contacto a 1000 ppm | 83,8 % en 24 h. | NI | Warikoo y Kumar (2014) |
| Semillas | Cloroformo | <i>Culex quinquefasciatus</i> | Larvicida | Contacto 25 ppm | 100 % en 24 h. | NI | Abou-Elnaga (2015) |
| Hojas | Etanol | <i>Achaea janata L.</i> | Ovicida | Contacto a 25 ppm | 70 % en 72 h. | NI | Devarshi y Yanchanchi, (2017) |
| Hojas | Etanol | <i>Spodoptera litura</i> | Larvicida | Contacto a 25 mg/mL | 60 % en 96 h. | NI | Vetal y Pardeshi, (2019) |
| Flor | Etanol | <i>Culex quinquefasciatus</i> | Larvicida | Contacto a 25 ppm | 100% en 5 días | Alcaloides, Flavonoides y Taninos | Granados-Echegoyen <i>et al.</i> (2018) |

Tabla 1. *Argemone mexicana* en el control de mosquitos vectores. NI = No identificado.

vectores, así como también las diversas metodologías usadas para el control de estos insectos.

Conclusiones

Las especies vegetales han cobrado relevancia en el tratamiento contra vectores. *Argemone mexicana* ha demostrado poseer cualidades en la actividad insecticida. Los resultados obtenidos demuestran que esta planta tiene componentes prometedores para el tratamiento en las diferentes partes que la conforman. Sin embargo, hace falta identificar los metabolitos secundarios que están implicados en dicha actividad por lo que se sugiere seguir los estudios enfocados en aislar y purificar los productos naturales que pueden estar implicados en esta capacidad y motivar a seguir los trabajos de investigación para reconocer a *A.*

mexicana como una alternativa eficaz y amigable con el ambiente.

Agradecimientos

Agradecemos a la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero por las facilidades para realizar este trabajo.

Referencias

- Abou-Elnaga, Z. (2015). Strong larvicidal properties of *Argemone mexicana* L. against medically important vectors *Culex pipiens* and *Aedes aegypti*. *International Journal of Mosquito research*, 2, 09-12.
- Alfermann, A.W., Petersen, M. (1995). Natural product formation by plant cell biotechnology.

- Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 43, 199-205.
- Avalos, A., Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología), Serie Fisiología Vegetal*, 283, 119-145.
- Andrade-Ochoa, S., Chacón-Vargas, K.F., Rivera-Chavira, B.E., Sánchez-Torres, L.E. (2017). Enfermedades transmitidas por vectores y cambio climático. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 25, 118-128.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Madon, M. (2010). *Mosquitoes and their control*. 2. Heidelberg: Springer, 528p.
- Beerntsen, B.T., James, A.A., Christensen, B.M. (2000). Genetics of mosquito vector competence. *Microbiology and Molecular Biology*, 64, 115-137.
- Brenner, L. (1992). Malathion. *Journal of Pesticides Reform*. 12(4): 29-37.
- Caglioti, C., Lalle, E., Castilletti, C., Carletti, F., Capobianchi, M.R., Bordi, L. (2013). Chikungunya virus infection: an overview. *The New Microbiologica*. 36, 211-27.
- Carnevale, P., Robert, V., Manguin, S., Corbel, V., Fontenille, D., Garros, C. (2009). Les anophèles-biologie, Transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. IRD ed: Marsella, 641p.
- CDC. (2020). Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases ¿Qué es un mosquito?
[National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases \(NCEZID\) | CDC](#)
- Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000). Natural products (Secondary metabolites). In: B. Buchanan., W. Gruissem., y R. Jones R. (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Vol. 24. American Society of Plant Physiologists, 1250-1318.
- Devarshi, A.A., Yankanchi, S.R. (2017). Ovicidal and toxic effects of certain plant extracts to the castor semilooper, *Achaea janata* L. (Noctuidae: Lepidoptera). *Indian Journal of Agricultural Research*, 51, 345-349.
- Elango, G., Rahuman, A.A., Kamaraj, C., Bagavan, A., Zahir, A.A. (2011). Screening for feeding deterrent activity of herbal extracts against the larvae of malaria vector *Anopheles subpictus* Grassi. *Parasitology Research*, 109, 15-726.
- Farag, M.R., Alagawany, M., Bilal, R.M., Gewida, A.G., Dhama, K., Abdel-Latif, H.M.R., Amer, M.S., Rivero-Pérez, N., Zaragoza-Bastida, A., Binnaser, Y.S., Batiha, G.E., Naiel, M.A.E. (2021). An Overview on the Potential Hazards of Pyrethroid Insecticides in Fish, with Special Emphasis on Cypermethrin Toxicity. *Animals*, 11, 12-25.
- Garcia, G.A., David, M.R., Martins, A.J., Maciel-de-Freitas, R., Linss, J., Araújo, S.C., Lima, J., Valle, D. (2018). The impact of insecticide applications on the dynamics of resistance: The case of four *Aedes aegypti* populations from different Brazilian regions. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 12, e0006227.
- Granados-Echegoyen, C.A., Chan-Bacab, M.J., Ortega-Morales, B.O., Vásquez-López, A., Lagunez-Rivera, L., Diego-Nava, F., Gaylarde, C. (2019). *Argemone mexicana* (Papaverales: Papavaraceae) as an Alternative for Mosquito Control: First Report of Larvicidal Activity of Flower Extract. *Journal of Medical Entomology*, 56, 261-267.
- Gorla, D. (2021). Cambio climático y enfermedades transmitidas por vectores en Argentina. *Medicina*, 81, 432-437.
- Hobart-Lee, M.D., Halverson, S., Ngozi, E. (2018). Mosquito-Borne Diseases. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 45, 393-407.
- Jiménez, G.S., Ducoing, H.P., Sosa, M.R. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 21, 355-363.
- Kim, K.H., Kabir, E., Jahan, S.A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*, 5, 525-535.
- Kramer, L., Styer, L.M., Ebel, G.D. (2008). A global perspective on the epidemiology of West Nile Virus. *Annual Review of Entomology*, 53, 61-81.
- Loha, K.M., Lamoree, M., Weiss, J.M., Boer, J. (2018). Import, disposal, and health impacts of pesticides in the East Africa Rift (EAR) zone: a review on management and policy analysis. *Crop Protection*, 112, 322-231.

- López-Solís, A.D, Castillo-Vera, A., Cisneros, J., Solís-Santoyo F., Penilla-Navarro, R.P., Black VI, W.C., Torres-Estrada, J.L., Rodríguez, A.D. (2020). Resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) de Tapachula, Chiapas, México. *Salud Pública de México*, 62, 439.
- Maha, A.A. (2019). An Analytical Survey of Trace Heavy Elements in Insecticides. *International Journal of Analytical Chemistry*, 8150793.
- Mills, P.K. (2018). Correlation analysis of pesticide use data and cancer incidence rates in California counties. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 53, 410-413.
- Moyes, C.L., Vontas, J., Martins, A.J., Ng, L.C., Koou, S.Y., Dusfour, I. (2017). Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11, 56-25.
- Muñoz-Quezada, M.T., Lucero, B., Iglesias, V., Muñoz, M.P., Achú, E., Cornejo, C., Concha, C., Grillo, A., Brito, A.M. (2016). Plaguicidas organofosforados y efecto neuropsicológico y motor en la Región del Maule, Chile. *Gaceta Sanitaria*, 30, 227-231.
- OMS. (2017). Infección por el Virus del Nilo Occidental. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/west-nile-virus>
- Pulido, M.T., Pagaza-Calderón, E.M., Martínez-Ballesté, A., Maldonado-Almanza, B., Saynes, A., Pacheco, R.M. (2008). Home gardens as an alternative for sustainability: Challenges and perspectives in Latin America. In Ulysses Paulino, Albuquerque y Marcelo Alves-Ramos (eds.), *Current Topics in Ethnobotany, India, Research Signpost, Kerala*, 55-79.
- Portillo, A., Ruiz-Arrondo, I., Oteo, J.A. (2018). Artrópodos como vectores de enfermedades transmisibles en España. *Medicina Clínica*, 151, 450-459.
- Rico-Guerrero, L., Medina-Ramos, S., Muñoz-Sánchez, C.I., Guevara-Olvera, L., Guevara-González, R.G., Guerrero-Aguilar, B.Z., Torres-Pacheco, I., Rodríguez-Guerra, R., González-Chavira, M.M. (2004). Detección de *Phytophthora capsici* Leonian en plantas de Chile (*Capsicum annuum* L.) mediante PCR. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22, 284-289.
- Rodríguez, C., López, E. (2001). Actividad insecticida e insectistática de la chilca (*Senecio salignus*) sobre *Zabrotes subfasciatus*. *Revista Manejo Integrado de Plagas*, 59, 19-26
- Rueda, L.M. (2008). Diversidad global de mosquitos (Insecta: Diptera: Culicidae) en agua dulce. In: Balian EV, Lévêque C., Segers H., Martens K. (eds) *Evaluación de la diversidad de animales de agua dulce. Desarrollos en Hidrobiología*, (198). https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8259-7_48
- Sakthivadivel, M., Thilagavathy, D. (2003). Larvicidal and chemosterilant activity of the acetone fraction of petroleum ether extract from *Argemone mexicana* L. seed. *Bioresource Technology*, 89, 213-216.
- Sharma, P., Mohan, L., Srivastava, C.N. (2009). Anti-juvenile activity of *Azadirachta indica* extract on the development and morphometry of filaria vector, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) Say. *Parasitology Research*, 105, 193-203.
- Sotelo-Leyva, C., Salinas-Sánchez, D.O., Peña-Chora, G., Trejo-Loyo, A.G., González-Cortazar, M., Zamilpa, A. (2020). Insecticidal compounds in *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) to control *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae). *Florida Entomologist*, 103, 91-95.
- Tandina, F., Doumbo, O., Yaro-Alpha, S., Sékou, F., Parola, P., Robert, V. (2018). Mosquitoes (Diptera: Culicidae) and mosquito-borne diseases in Mali, West Africa. *Parasites & Vectors*, 11, 467.
- Torija-Torres, A., Huerta-De la Peña, A., Aragón-García, A. (2014). Evaluación de dos extractos vegetales y el colorante phloxine-B para la captura de la mosca del nogal de castilla, en Puebla, México. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 10(6), 9-22.
- Ulloa-García, A. (2019). Biodiversidad de mosquitos y vectores de enfermedades. *Biomédica*, 30, 103-104.
- Van den Berg, H., Velayudhan, R., Yadav, R.S. (2021). Management of insecticides for use in

- disease vector control: lessons from six countries in Asia and the Middle East. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 15, 56-70.
- Vetal, D.S., Pardeshi, A.B. (2019). Larvicidal potential of *Argemone mexicana* L. Plant extracts against *Spodoptera litura* fab. *The Pharma Innovation Journal*, 8, 698-702.
- Weaver, S.C., Reisen, W.K. (2010). Present and future arboviral threats. *Antiviral research*, 85, 328-345.
- Wilson, A.L., Courtenay, O., Kelly-Hope, L.A., Scott, T.W., Takken, W., Torr, S.J., Lindsay, S.W. (2020). The importance of vector control for the control and elimination of vector borne diseases. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 14, e0007831.
- Warikoo, R., Kumar, S. (2014). Impact of the *Argemone mexicana* stem extracts on the reproductive fitness and behavior of adult dengue vector, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *International Journal of Insect Science*, 6,71-78.
- WHO. (2013). World malaria report, Geneva. World Health Organization.
<https://www.who.int/publications/i/item/9789241564694>

Tlamati Sabiduría



Ayahuasca para principiantes: un estudio clínico en jóvenes

Reyna Cabañas-Martínez¹
Perla Selina Torreblanca-García¹
Salvador Muñoz-Barrios¹
Cecilia González-Calixto²
Gabriel Alberto Cruz-Flores³
Mercedes Calixto-Gálvez¹
José Daniel Anaya-Tacuba¹
Mirella Maruris-Reducindo¹
Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta^{1*}

¹Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Guerrero. Ex Rancho El Shalako, Carretera Nacional Chilpancingo-Petaquillas, 39115, Guerrero, México.

²Facultad de Enfermería, Universidad Autónoma de Guerrero. Paseo de la Cañada, Alta Progreso, 39610, Acapulco, Guerrero, México.

³Centro Los Milagritos. Morelos s/n, Santa María Colotepec, 70934, Oaxaca, México.

*Autor de correspondencia
uriosteguiacosta@uagro.mx

Resumen

La ayahuasca es un brebaje enteógeno utilizado originalmente con fines de sanación física y espiritual por las poblaciones amerindias del oeste de la Cuenca del Amazonas. En las últimas cuatro décadas, el uso de la ayahuasca se extendió hacia las principales ciudades de Brasil y del extranjero para tratar diferentes patologías. En este trabajo se evaluó si la ingesta de ayahuasca produce cambios en el neurotransmisor acetilcolina, y en los parámetros hematológicos, así como en la actividad hepática en jóvenes. Los resultados fueron los siguientes: no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en el perfil hepático

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Cabañas-Martínez R., Torreblanca-García P.S., Muñoz-Barrios S., González-Calixto C., Cruz-Flores G.A., Calixto-Gálvez M., Anaya-Tacuba J.D., Urióstegui-Acosta M.O. (2023). Ayahuasca para principiantes: un estudio clínico en jóvenes. *Tlamati Sabiduría*, 15, 74-81.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; Publicado: 18 de septiembre 2023



(TGO y TGP), Bilirrubina total, directa e indirecta y actividad de la AChE. No obstante, se vio alterada la cuenta eritrocitaria, y se observó un ligero incremento en los niveles de VCM y HCM. En conclusión, los resultados de este estudio muestran que el consumo de ayahuasca no afecta el estado de salud de quienes la consumen.

Palabras Clave: Ayahuasca, Acetilcolina, Parámetros hematológicos, Perfil hepático.

Abstract

Ayahuasca is a psychedelic potion originally used for magical-religious purposes by the Amerindian populations of western Amazon Basin. In the last four decades, the use of ayahuasca has spread to the main cities of Brazil and abroad to treat different pathologies. In this work, it was evaluated if the intake of ayahuasca produces changes in the neurotransmitter acetylcholine, and in the hematological parameters, as well as in the hepatic activity in young people. The results of this work were the following: no statistically significant differences were observed in the hepatic profile (TGO and TGP), total, direct and indirect Bilirubin and AChE activity. However, the erythrocyte count was altered, as well as a slight increase in the levels of VCM and HCM. In conclusion, the results of this study show that the consumption of ayahuasca does not affect health status of those who consume it.

Key words: Ayahuasca, Acetylcholine, Pematological parameters, Hepatic profile.

Introducción

Ayahuasca es un término quechua que se refiere a una preparación psicoactiva de la región de la cuenca Amazónica en América del Sur, donde se considera una “planta maestra” (Estrella *et al.*, 2019). Es nativa de Sudamérica, principalmente de las regiones amazónicas, de Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil y Venezuela (Estrella *et al.*, 2019). Los componentes activos principales en la bebida son el: DMT (Dimetil triptamina), Harmina, Harmalina. La DMT no produce efectos psicoactivos cuando se toma por vía oral, pero sí cuando se ingiere combinadamente con las β -carbolinas presentes en la ayahuasca (Riba *et al.*, 2003; McKenna, 2004; Riba y Barbanoj, 2005). La harmina inhibe el metabolismo del DMT en el tracto gastrointestinal y, por tanto, se permite así su llegada al torrente sanguíneo y sistema nervioso central, donde actúa como un agonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} y 5-HT_{1A} en las regiones paralímbicas y frontales del cerebro (Riba *et al.*, 2003, 2006). Las β -

carbolinas son alcaloides IMAOs (inhibidores de la enzima monoaminoxidasa) de acción corta, son sustancias liposolubles y, por consiguiente, penetran la barrera hematoencefálica y pueden depositarse en el tejido graso y en el cerebro. Su eliminación se efectúa por vía renal, aunque no se conoce exactamente en qué forma lo hacen (Téllez, 2005).

Se ha estudiado el uso terapéutico en patologías como alzhéimer, párkinson, depresión, síntomas psiquiátricos y en otros casos como son los problemas de identidad sexual, autoaceptación, toma de decisiones y neoplasias, sugieren que la ayahuasca podría ser útil también en estos casos (Escobar-Cornejo, 2015; Cavnar, 2011). Se han estudiado los efectos de la harmina cuando es administrada crónicamente. En el modelo de deterioro crónico del estrés de la depresión, la harmina (15 mg / kg / 7 días) revirtió la anhedonia y normalizó la Hormona Adrenocorticotrópica (ACTH) y los niveles de BDNF (Fortunato *et al.*, 2010a) y cuando se administró por 14 días, la harmina redujo la inmovilidad en la prueba de

nado forzado y aumentó los niveles de BDNF en el hipocampo (Fortunato *et al.*, 2010b). Por otra parte, estudios han reportado significativas modificaciones perceptuales, cognitivas y afectivas, no se encontraron evidencias clínicas relevantes de alteraciones en índices hematológicos o indicadores bioquímicos de la función del hígado en un experimento con humanos (Riba *et al.*, 2001). Estudios con Electroencefalograma (EEG) reportan que la ayahuasca reduce la actividad de la unión temporo-parieto-occipital, corteza temporal y en regiones frontomediales, áreas que comprenden las cortezas de asociación somato sensorial, auditiva y visual, la corteza de asociación temporo parietal y también estructuras paralímbicas, que son relevantes en la emoción y procesos de memoria (Riba *et al.*, 2004).

Finalmente, se identificó a la harmina como un nuevo activador de p53 involucrado en la señal de inhibición de la angiogénesis y crecimiento tumoral. La harmina indujo la fosforilación de p53 interfiriendo de esta forma en la interacción entre p53 y la proteína MDM2, también previno la degradación de p53 e hizo posible su acumulación en el núcleo de las células endoteliales seguido de un incremento en la actividad de transcripción. Se evidencia que no solo indujo el detenimiento del ciclo de las células endoteliales, sino que también detuvo la formación de tubos y la inducción de neovascularización en tejido de córnea en ratones (Dai *et al.*, 2012). Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue evaluar si la ingesta de ayahuasca produce cambios en la neurotransmisor acetilcolina, y en los parámetros hematológicos, así como en la actividad hepática en jóvenes.

Metodología

Muestreo

Se invitaron un total de 15 individuos y cada participante firmo una carta de conocimiento informado. Las muestras fueron colectadas y transportadas al Laboratorio de Inmunotoxigenómica de la ESCN-UAGro para ser procesadas. Se obtuvieron las muestras de sangre de cada donante por punción venosa utilizando tubos tratados con heparina, EDTA o sin anticoagulante. La actividad de AChE se

evaluó inmediatamente después de la extracción de sangre utilizando la técnica de acetilcolinesterasa propuesta por Ellman *et al.* (1961) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los cambios colorimétricos se midieron a 412 nm en un biospectrofotómetro Spectronic Genesys (Thermo Electron Corp, Madison, Wisconsin).

Validación del ensayo

La repetitividad del análisis se evaluó con base en el análisis por duplicado de dos muestras de plasma. En cada caso, el coeficiente de variación calculado fue del 10% o menos. El límite de detección de este método fue de 123 U/L y la respuesta espectrométrica fue lineal hasta 25.000 U/L. Los parámetros hematológicos se analizaron utilizando un biospectrofotómetro Spectronic Genesys (Thermo Electron Corp, Madison, Wisconsin). Se obtuvieron los niveles de leucocitos (granulocitos, linfocitos, eosinófilos, neutrófilos y monocitos), eritrocitos, hematocrito, hemoglobina y plaquetas. Las enzimas aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, lactato deshidrogenasa (LDH), Bilirrubina total directa e indirecta, se determinaron mediante ensayos colorimétricos (Spinreact, Lab center, México).

Análisis estadístico

Los resultados fueron capturados y analizados con el programa estadístico STATA v. 17 (StataCorp LP, EUA). Se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk a todas las variables con la finalidad de verificar si los datos tenían una distribución normal. Se determinaron las frecuencias absolutas para las variables cualitativas y diferencias entre las proporciones mediante la prueba de χ^2 . Se utilizaron la media y desviación estándar para las variables cuantitativas simétricas y las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba de *t-Student*. Se utilizaron la mediana y percentil 5 y 95 para las cuantitativas no simétricas y las comparaciones entre los grupos se realizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney. La correlación entre los parámetros bioquímicos y hematológicos con el consumo de ayahuasca, fue determinada por el coeficiente de correlación de Pearson (en las que

presentan una distribución normal) o de Spearman (para las variables que no tuvieron una distribución normal). Todas las pruebas fueron consideradas estadísticamente significativas si presentaron un valor de $p < 0.05$.

Resultados

Se analizaron los datos clínicos de los 10 participantes del estudio, todos originarios del estado de Guerrero (Tabla 1). Se observó una mayor participación del género femenino, la mitad de los participantes fuma y la mayoría consume alcohol. Además, la mayoría tiene estudios de licenciatura. Por otra parte, en la valoración clínica, no se observaron datos anormales.

Posteriormente, se procedió a realizar el análisis de la comparación de los parámetros hematológicos y bioquímicos anteriores y posteriores del consumo de la ayahuasca (Tabla 2), encontrándose una disminución significativa en el recuento total de eritrocitos ($p = 0.021$), el VCM ($p = 0.030$) y la HCM ($p = 0.020$) después del consumo de ayahuasca.

Al realizar el análisis de correlación entre el consumo de ayahuasca con los parámetros de laboratorio, se observó una correlación negativa entre el recuento total de eritrocitos, ($p = 0.021$). Por otro lado, se obtuvo una correlación positiva con el VCM y la HCM ($p = 0.030$, y $p = 0.020$, respectivamente) y no se observó ninguna correlación significativa con el resto de los parámetros de laboratorio (Tabla 3).

Discusión

El uso religioso de la ayahuasca fue reconocido como una práctica legal en Brasil y representa la libertad de culto religioso (Labate y Feeney., 2012). En suma, a parte de los adultos, muchos miembros de los grupos religiosos de la ayahuasca, incluyendo mujeres embarazadas, infantes y adolescentes, consumen ayahuasca en rituales religiosos y pueden continuar así a lo largo de la vida (Costa et al., 2005). Independientemente de la larga tradición de usos religiosos, el consumo de la ayahuasca es controversial y desde 1982, la seguridad toxicológica de la ayahuasca ha sido

extensivamente cuestionado. Como una consecuencia la ayahuasca fue incluida en la lista de sustancias prohibidas. Solo hasta 1987 el uso de la ayahuasca fue oficialmente legalizado en Brasil, y después de algunos años, sus usos religiosos fueron reconocidos como una práctica legal en Brasil (CONAD, 2004).

Los IMAO han sido usados en el tratamiento de la depresión (Stahl y Felker, 2008) y en la enfermedad de Parkinson. Por esta razón, los psicodélicos pueden modular el sistema de

| Característica | Participantes n=10 |
|--|-----------------------|
| Edad (años) | 23 ± 3 |
| Género | |
| Femenino % (n) | 80 (8) |
| Masculino % (n) | 20 (2) |
| Grado de estudios | 80 (8) |
| Licenciatura % (n) | 10 (1) |
| Preparatoria % (n) | 0 (0) |
| Secundaria % (n) | 10 (1) |
| Primaria % (n) | 0 (0) |
| Sin estudios % (n) | 0 (0) |
| Tabaquismo ^o | |
| Si % (n) | 50 (5) |
| No % (n) | 50 (5) |
| Alcoholismo ^{&} | |
| Si % (n) | 60 (6) |
| No % (n) | 40 (4) |
| Drogadicción ^s | |
| Si % (n) | 20 (2) |
| No % (n) | 80 (8) |
| Peso (kg) | 67.8 + 17.7 |
| Estatura (m) | 1.59 + 0.07 |
| IMC (kg/m ²) | 26.7 + 5.8 |
| Presión arterial sistólica (mm de Hg) | 122.9 + 8.4 |
| Presión arterial diastólica (mm de Hg) | 85.6 + 6.7 |
| Pulso (latidos cardíacos por minuto) | 88 + 8 |
| Temperatura (° C) | 36 + 0.5 |

Tabla 1. Características sociodemográficas y clínicas de los participantes. Se muestran media ± desviación estándar y porcentajes (frecuencia absoluta) para las variables cualitativas. IMC (índice de masa corporal). ^oSe consideró como tabaquismo si tenían antecedentes o fumaba actualmente. [&]Se consideró como alcoholismo si tenían antecedentes o consumen alcohol actualmente. ^sSe consideró como drogadicción si tenían antecedentes o consumen alguna droga de abuso actualmente.

| Parámetro | Anterior n=10 | Posterior n=10 | p* ^{&} |
|--|------------------|-------------------|------------------------|
| Recuento total de eritrocitos (x10 ⁶ /μL) | 4.92 ± 0.98 | 3.98 ± 0.6 | 0.021* |
| Hemoglobina (g/dL) | 13.3 (12 - 17.5) | 14.4 (12 - 17.2) | 0.382 ^{&} |
| HTC (%) | 44 ± 3 | 44 ± 3 | 0.888* |
| VCM (fL) | 92 ± 18 | 110 ± 18 | 0.030* |
| HCM (pg) | 28 ± 4 | 34 ± 6 | 0.020* |
| CMHC (g/dL) | 31 ± 3 | 32 ± 3 | 0.435* |
| Recuento total de leucocitos (x10 ³ / μL) | 6.9 ± 1.4 | 8.0 ± 2.2 | 0.831* |
| Linfocitos (%) | 32 ± 5 | 30 ± 7 | 0.604* |
| Monocitos (%) | 4 ± 1 | 3 ± 2 | 0.699* |
| Eosinófilos (%) | 3 ± 2 | 2 ± 2 | 0.370* |
| Neutrófilos segmentados (%) | 60 ± 7 | 62 ± 8 | 0.524* |
| Neutrófilos en banda (%) | 0 (0 - 1) | 0 (0 - 3) | 0.629 ^{&} |
| Recuento total de plaquetas (x10 ³ / μL) | 356 ± 43 | 325 ± 65 | 0.331* |
| TGO (U/L) | 24 (6 - 30) | 28 (12 - 30) | 0.590 ^{&} |
| TGP (U/L) | 17 (13 - 35) | 17 (10 - 37) | 0.864 ^{&} |
| Bilirrubina total (mg/dL) | 0.5 ± 0.3 | 0.6 ± 0.2 | 0.672* |
| Bilirrubina indirecta (mg/dL) | 0.4 ± 0.3 | 0.4 ± 0.2 | 0.615* |
| Bilirrubina directa (mg/dL) | 0.1 ± 0.1 | 0.2 ± 0.1 | 0.172* |
| Acetilcolinesterasa (U/mL) | 1 (0 - 3) | 1 (0 - 1) | 0.926 ^{&} |

Tabla 2. Parámetros hematológicos y bioquímicos de los participantes, anterior y posterior al consumo de ayahuasca. Se muestran media ± desviación estándar, para las variables paramétricas; mediana (percentil 5 - percentil 95), para las variables no paramétricas. HTC (hematocrito), VCM (volumen corpuscular medio), HCM (hemoglobina corpuscular media), CMHC (concentración media de hemoglobina corpuscular), TGO (transaminasa glutámica oxalacética), TGP (transaminasa glutámico pirúvica). *Prueba de t de Student, [&]prueba de U de Mann-Whitney.

circuitos prefrontal-límbico que está implicado en la patofisiología de los desórdenes afectivos y del humor como la ansiedad y depresión (Vollenweider y Kometer 2010).

El compuesto ayahuasca ha sido reportado para ejercer un efecto neuroprotector y en estudios preclínicos han demostrado un efecto neuroprotector de la harmina. En ratas con isquemia cerebral, la harmamina disminuye el infarto cerebral y reduce la muerte neuronal (Sun *et al.*, 2014). Un extracto de *B.caapi* y harmamina mostraron una inhibición dependiente de la concentración de MAO-A en homogenado de hígado y consecuentemente un incremento en la relación de dopamina de cortes estriales de rata (Schwarz *et al.*, 2003).

El compuesto ayahuasca ha sido reportado para ejercer un efecto neuroprotector y en estudios preclínicos han demostrado un efecto neuroprotector de la harmina. En ratas con isquemia cerebral, la harmamina disminuye el infarto cerebral y reduce la muerte neuronal (Sun *et al.*, 2014). Un extracto de *B.caapi* y harmamina

mostraron una inhibición dependiente de la concentración de MAO-A en homogenado de hígado y consecuentemente un incremento en la relación de dopamina de cortes estriales de rata (Schwarz *et al.*, 2003).

En resumen, el potencial terapéutico, varios estudios han examinado la posible citotoxicidad de la ayahuasca y la β-carbolina (Boeira *et al.*, 2001; Cao *et al.*, 2011; Dominguez-Clavé *et al.*, 2016). Nakagawa *et al.* (2010) mostró que la harmina disminuye la viabilidad de hepatocitos de rata, acompañado por la pérdida de ATP intracelular, nucleótidos de adenina, GSH, proteínas tioles y un incremento en el glutatión reducido (GSSH) y niveles de ROS. Estos resultados sugieren que la citotoxicidad de la harmina involucra disfunción mitocondrial y que el hígado fue un órgano blanco potencial, en este trabajo se evaluó la función hepática, como un parámetro para evaluar si la ayahuasca es tóxica en los usuarios que la consumen, para ello se monitorearon los parámetros TGO, TGP, Bilirrubina total, directa e indirecta. La TGO y la

| Ayahuasca | | |
|--|--------|---------------|
| Parámetro | r | p*/*& |
| Recuento total de eritrocitos (x10 ⁶ /μL) | -0.514 | 0.021* |
| Hemoglobina (g/dL) | 0.208 | 0.378& |
| HTC (%) | -0.034 | 0.888* |
| VCM (fL) | 0.485 | 0.030* |
| HCM (pg) | 0.514 | 0.020* |
| CMHC (g/dL) | 0.185 | 0.435* |
| Recuento total de leucocitos (x10 ³ /μL) | 0.051 | 0.831* |
| Linfocitos (%) | -0.123 | 0.604* |
| Monocitos (%) | -0.092 | 0.699* |
| Eosinófilos (%) | -0.212 | 0.370* |
| Neutrófilos segmentados (%) | 0.151 | 0.524* |
| Neutrófilos en banda (%) | -0.173 | 0.466& |
| Recuento total de plaquetas (x10 ³ /μL) | -0.260 | 0.331 |
| TGO (U/L) | 0.150 | 0.578& |
| TGP (U/L) | 0.055 | 0.841& |
| Bilirrubina total (mg/dL) | 0.115 | 0.672* |
| Bilirrubina indirecta (mg/dL) | -0.136 | 0.615* |
| Bilirrubina directa (mg/dL) | 0.359 | 0.172* |
| Acetilcolinesterasa (U/mL) | -0.026 | 0.913& |

Tabla 3. Correlación entre el consumo de Ayahuasca con los parámetros de laboratorio. Se muestran los índices de correlación (r). HTC (hematocrito), VCM (volumen corpuscular medio), HCM (hemoglobina corpuscular media), CMHC (concentración media de hemoglobina corpuscular), TGO (transaminasa glutámica oxalacética), TGP (transaminasa glutámico pirúvica). *Coeficiente de correlación de Pearson, & Coeficiente de correlación de Spearman.

TGP son enzimas que normalmente se miden con el objetivo de evaluar la salud del hígado, también conocidas como transaminasas. La TGO (transaminasa glutámica oxalacética), también llamada AST (aspartato aminotransferasa), es producida por varios tejidos como el corazón, músculos e hígado, y se localiza en el interior de las células hepáticas. Por ello, cuando solo hay un aumento de los niveles de TGO, es común que esté relacionado con una situación ajena al hígado; puesto que, en el caso de lesiones hepáticas, es necesario que la lesión sea más extensa para que haya ruptura de las células del

hígado y se libere la TGO en la sangre (Lee *et al.*, 2012).

Por otra parte, la TGP o GPT, conocida como transaminasa pirúvica o ALT (alanina aminotransferasa), es producida exclusivamente en el hígado; por esta razón, cuando hay alguna alteración en este órgano, se puede verificar un aumento de la cantidad circulante de esta enzima en la sangre (Lee *et al.*, 2012). En este trabajo no se observaron alteraciones significativas con respecto a estas dos enzimas.

La bilirrubina está compuesta por la bilirrubina indirecta (conjugada) y la directa (conjugada). El grupo hemo de la hemoglobina es degradada a biliverdina por la enzima hemo-oxigenasa y entonces dentro de la bilirrubina por la enzima biliverdina reductasa (Bauer *et al.*, 2008). La bilirrubina es después conjugada en el hígado, secretada en la bilis y eliminado en las heces. Consecuentemente, la bilirrubina puede ser un parámetro muy usado para evaluar daño hepatobiliar, tales como daño parénquima u obstrucción biliar. Sin embargo, la bilirrubina puede también ser incrementada a través de causas no hepáticas, tales como el daño muscular o hemolisis (Harris *et al.*, 2013; Ozer *et al.*, 2008). En este trabajo en las determinaciones de bilirrubina no se observaron diferencias significativas en el grupo estudiado.

Por otro lado, se evaluó la actividad de la AChE, el cual es un importante neurotransmisor y alteraciones en este parámetro nos habla de alteraciones a nivel de sistema nervioso, sin embargo, en este trabajo no se encontraron alteraciones en la actividad de la AChE en los participantes.

Finalmente, en los parámetros hematológicos en este estudio se observó una disminución en la cuenta eritrocitaria, y un incremento en los niveles de VCM y HCM, esto puede ser debido a que se les dio una dieta vegana y esta produce un déficit de la vitamina B12 días previos a la toma de la ayahuasca.

Conclusiones

Los resultados muestran que el consumo de ayahuasca no afecta la función hepática en los voluntarios, ni tampoco en la actividad del

neurotransmisor AChE, pero sí se vio afectada la cuenta eritrocitaria, los niveles de VCM y HCM. Sin embargo, en vista que el tamaño de la muestra usada fue pequeño en este estudio, se necesitarán estudios adicionales con muestras más grandes para evaluar adecuadamente la seguridad de la ayahuasca y sus potenciales efectos en la función hepática, nerviosa (AChE) y salud en general.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Escuela Superior de Ciencias Naturales-UAGro y al Laboratorio de Inmunotoxigenómica por el apoyo y el espacio brindado para la realización de este proyecto, de igual manera los autores agradecen a Reyna Cabañas Martínez y Perla Selina Torreblanca García por su colaboración en las actividades de laboratorio.

Referencias

- Bauer, M., Huse, K., Settmacher, U., Claus, R.A. (2008). The heme oxygenase carbon monoxide system: Regulation and role in stress response and organ failure. *Intensive Care Medicine* 34 (4), 640-648.
- Boeira, J.M., Da Silva, J., Erdmann, B., Henriques, J.A.P. (2001). Genotoxic effect of the alkaloids harman and harmine assessed by comet assay and chromosome aberration test in mammalian cells in vitro. *Pharmacology and Toxicology*, 89, 287-294.
- Cao, M.R., Li, Q., Liu, Z.L., Liu, H.H., Wang, W., Liao, X.L., Pan, Y.L., Jian, J.W. (2011). Harmine induces apoptosis in HepG2 cells via mitochondrial signaling pathway. *Hepatobiliary and Pancreatic Diseases International*, 10, 599-604.
- Cavnar, C. (2011). The Effects of Participation in Ayahuasca Rituals on Gays and Lesbians Self Perception (Disertación doctoral). John F. Kennedy University, Pleasant Hill, CA. http://www.neip.info/upd_blob/0001/1455.pdf.
- CONAD (2004). Conselho Nacional de Políticas sobre Drogas November 4. Resolucao no 5 (Resolution no 5) Brasilia, DF: Diario Oficial da Uniao. https://www.normasbrasil.com.br/norma/resolucao-5-2004_100836.html
- Costa, M.C.M., Figueiredo, M.C., Cazenave, S.S. (2005). Ayahuasca: Uma abordagem toxicológica do uso ritualístico. *Revista De Psiquiatria Clinica*, 32, 310-318.
- Dai, F., Chen, Y., Song, Y., Huang, L., Zhai, D., Dong, Y., Lai, L., Zhang, T., Li, D., Pang, X., Liu, M., Yi, Z. (2012). A Natural Small Molecule Harmine Inhibits Angiogenesis and Suppresses Tumor Growth Through Activation of p53 in Endothelial Cells. *Plos One*, 7, e52162.
- Domínguez-Clavé, E., Soler, J., Elices, M., Pascual, J.C., Álvarez, E., de la Fuente-Revenga, M., Friendlander, P., Feilding, A., Riba, J. (2016). Ayahuasca: Pharmacology, neuroscience and therapeutic potential. *Brain Research Bulletin*, 126, 89-101.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres jr, V., Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.
- Escobar-Cornejo, S.E. (2015). Las propiedades farmacocinéticas de la ayahuasca. *Liberabit*, 21, 313- 319.
- Estrella-Parra, E.A., Almazán-Pérez, J.C. Alarcón-Aguilar, F.J. (2019). Ayahuasca: Uses, phytochemical and biological activities. *Natural Products and Bioprospecting*, 9, 251-265.
- Fortunato, J.J., Réus, G.Z., Kirsch, T.R., Stringari, R.B., Fries, G.R., Kapczinski, F., Hallak, J.E., Zuardi, A.W., Crippa, J.A., Quevedo, J. (2010a). Effects of β -Carboline Harmine on Behavioral and Physiological Parameters Observed in the Chronic Mild Stress Model: Further Evidence of Antidepressant Properties. *Brain Research Bulletin*, 81, 491-496.
- Fortunato, J.J., Réus, G.Z., Kirsch, T.R., Stringari, R.B., Fries, G.R., Kapczinski, F., Hallak, J.E., Zuardi, A.W., Crippa, J.A., Quevedo, J. (2010b). Chronic Administration of Harmine Elicits Antidepressant-Like Effects and Increases BDNF Levels in Rat Hippocampus. *Journal of Neural Transmission*, 117, 1131-1137.
- Harris, R.H., Sasson, G., Mehler, P.S. (2013). Elevation of liver function test in severe

- anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 46, 369-374.
- Labate, B.C., K. Feeney. (2012). Ayahuasca and the process of regulation in Brazil and internationally: Implications and challenges. *International Journal of Drug Policy*, 23, 154-161.
- Lee, T.H., Kim, W.R., Poterucha, J.J. (2012). Evaluation of elevated liver enzymes. *Clinics in Liver Disease*, 16, 183-198.
- McKenna, D.J. (2004). Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges. *Pharmacology and Therapeutics*, 102, 111-129.
- Nakagawa, Y., Suzuki, T., Ishii, H., Ogata, A., Nakae, D. (2010). Mitochondrial dysfunction and biotransformation of β -carboline alkaloids, harmine and harmaline, on isolated rat hepatocytes. *Chemico-Biological Interactions*, 188, 393-403.
- Ozer, J., Ratner, M., Shaw, M., Bailey, W., Schomaker, S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, 245, 194-205.
- Riba, J., Rodríguez-Fornells, A., Urbano, G., Morte, A., Antonijoan, R., Montero, M., Barbanoj, M.J. (2001). Subjective Effects and Tolerability of the South American Psychoactive Beverage Ayahuasca in Healthy Volunteers. *Psychopharmacology*, 154, 85-95.
- Riba, J., Valle, M., Urbano, G., Yritia, M., Morte, A., Barbanoj, M.J. (2003). Human Pharmacology of Ayahuasca: Subjective and Cardiovascular Effects, Monoamine Metabolite Excretion, and Pharmacokinetics. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306, 73-83.
- Riba, J., Anderer, P., Jané, F., Saletu, B., Barbanoj, M.J. (2004). Effects of the South American Psychoactive Beverage Ayahuasca on Regional Brain Electrical Activity in Humans: A Functional Neuroimaging Study Using Low-Resolution Electromagnetic Tomography. *Neuropsychobiology*, 50, 89-101.
- Riba, J., Barbanoj, M.J. (2005). Bringing Ayahuasca to the Clinical Research Laboratory. *Journal of Psychoactive Drugs*, 37, 219-230.
- Riba, J., Romero, S., Grasa, E., Mena, E., Carrió, I., Barbanoj, M.J. (2006). Increased frontal and paralimbic activation following ayahuasca, the pan-Amazonian inebriant. *Psychopharmacology*, 186, 93-8.
- Schwarz, M.J., Houghton, P.J., Rose, S., Jenner, P., Lees, A.D. (2003). Activities of extract and constituents of *Banisteriopsis caapi* relevant to parkinsonism. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 75, 627-633.
- Stahl, S.M., Felker, A. (2008). Monoamine Oxidase Inhibitors: a Modern Guide to an Unrequited Class of Antidepressants. *CNS Spectrums*, 13, 855-870.
- Sun, P., Zhang, S., Li, Y., Wang, L. (2014). Harmine mediated neuroprotection via evaluation of glutamate transporter in a rat model of global cerebral ischemia. *Neuroscience Letters*, 583, 32-36.
- Téllez, J. (2005). Yajé y hongos alucinógenos, aspectos relacionados con su toxicidad. *Avances en enfermería*, 23, 92-102
- Vollenweider, F.X., Kometer, M. (2010). The neurobiology of psychedelic drugs: Implications for the treatment of Mood Disorders. *Nature Review Neuroscience*, 11, 642-651.

Tlamati Sabiduría



Efecto de la infección por *Yersinia pseudotuberculosis* sobre la morfología, activación de Rac y RhoA de eritrocitos de ratón BALB/c

Jonathan Cisneros-Pano¹
Patricia Talamás-Rohana²
Argelia Poblete-Mayo²
Dulce María Vega-Rodríguez¹
Julia Flores-de la Cruz¹
Donaciano Flores-Robles^{2*}

¹Centro de investigación especializada en microbiología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Guerrero. Ex Rancho El Shalako, Carretera Nacional Chilpancingo-Petaquillas, Col. Las Colinas, 39115, Petaquillas, Guerrero, México.

²Departamento de Biología celular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, San Pedro Zacatenco, 07360, Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia
floresrd@hotmail.com

Resumen

Yersinia pseudotuberculosis es una bacteria Gram negativa considerada como un patógeno intracelular facultativo distribuida ampliamente en la naturaleza y responsable de síndromes gastrointestinales en diferentes especies. La bacteria es capaz de atravesar el epitelio gastrointestinal y evadir la respuesta inmune para causar infecciones localizadas. Entre las proteínas involucradas en la internalización de *Y. pseudotuberculosis* se encuentran las GTPasas Rac y RhoA, quienes participan en procesos de estructuración del citoesqueleto. Se ha observado que la bacteria interacciona con eritrocitos murinos causando deformaciones de la membrana, culminando en la lisis de los eritrocitos, pero se desconocen las causas que provocan estos eventos. En eritrocitos de ratones BALB/c infectados por *Y. pseudotuberculosis*, se analizó la morfología empleando microscopía confocal, además se midió la activación Rac y RhoA.

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Cisneros-Pano, J., Talamás-Rohana, P., Poblete-Mayo, A., Vega-Rodríguez, D.M., Flores-de-la-Cruz, J., Flores-Robles, D. (2023). Efecto de la infección por *Yersinia pseudotuberculosis* sobre la morfología, activación de Rac y RhoA de eritrocitos de ratón BALB/c. *Tlamati Sabiduría*, 15, 82-89.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; Publicado: 23 de septiembre 2023



Se observaron cambios en la estructuración de actina en el citoesqueleto. Los niveles de activación de las GTPasas Rac y RhoA se encontraron incrementadas, además de observarse cambios en el perfil de proteínas fosforiladas en los eritrocitos de ratones infectados por *Y. pseudotuberculosis*. La interacción de los eritrocitos con *Y. pseudotuberculosis* genera cambio en la estructuración de actina del citoesqueleto del eritrocito, así como un incremento en la activación de Rac y RhoA, además, se incrementa la generación de ROS y se modifica el perfil de fosforilación de proteínas de los eritrocitos.

Palabras clave: Fosforilación, GTPasas, Rac, RhoA, *Yersinia pseudotuberculosis*.

Abstract

Yersinia pseudotuberculosis is a Gram negative bacteria considered a facultative intracellular pathogen, widely distributed in nature and responsible for gastrointestinal syndromes in different species. The bacterium is able to cross the gastrointestinal epithelium and evade the immune response to cause localized infections. Among the proteins involved in the internalization of *Y. pseudotuberculosis* are the Rac and RhoA GTPases, those involved in cytoskeletal structure processes and generate ROS oxidize phosphatases deregulating the basal phosphorylation of the cytoskeleton. It has been observed that bacteria interacts with murine erythrocytes causing deformation of the membrane, culminating in the lysis of erythrocytes, but the causes of these events are known. Erythrocytes of infected BALB / c mice by *Y. pseudotuberculosis*, morphology was analyzed using confocal microscopy further activation of Rac and RhoA was measured, and the production of ROS and changes in the phosphorylation profile. There were changes in the structuring of actin from cytoskeleton. Levels of activation of Rac and RhoA GTPases found increased further to meet changes in the profile of phosphorylated proteins in erythrocytes of infected mice with *Y. pseudotuberculosis*. Erythrocyte interaction with *Y. pseudotuberculosis* generates change in the cytoskeleton actin structuring, increased activation of Rac and RhoA also ROS generation is increased and the phosphorylation profile of erythrocyte proteins is modified

Keywords: Phosphorylation, GTPases, Rac, RhoA, *Yersinia pseudotuberculosis*.

Introducción

El género *Yersinia* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, comprende bacilos Gram negativos no esporulados. De las 17 especies existentes, 3 son patógenas para el ser humano: *Y. pestis* es causante de la fiebre bubónica; *Y. enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis* son responsables de síndromes gastrointestinales. La transmisión al hombre se debe a la picadura de pulgas presentes en animales infectados en el caso de *Y. pestis*, mientras que *Y. enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis* se transmiten por la ingesta de alimentos y/o bebidas contaminadas con excretas de organismos infectados (El-Maraghi y Mair, 1979; Bergsbaken y Cookson, 2009).

Las GTPasas son proteínas de señalización intracelular, miembros de la familia Rho y de la

superfamilia Ras, las cuales cambian entre su forma inactiva unida a GDP y su forma activa unida a GTP con el fin de regular múltiples vías involucradas en la organización celular actomiosina, la adhesión y la proliferación. Se ha demostrado que estas enzimas desempeñan funciones únicas en las células hematopoyéticas sanguíneas.

Las proteínas Rac, unidas a GDP inactivas, son secuestradas en el citosol por inhibidores de la disociación de nucleótidos de guanina (GDIs) que se unen a la región hidrofóbica C-terminal de Rac, la misma región que es responsable de la unión de Rac a la membrana plasmática. Se ha visto que la deficiencia concomitante de Rac1 y Rac2 causa una profunda perturbación de la actina polimerizada y una deformabilidad anormal del citoesqueleto de los eritrocitos, indicando una

regulación dinámica de la organización del citoesqueleto de los eritrocitos (Pantaleo *et al.*, 2010a).

Y. pseudotuberculosis es una bacteria Gram negativa, considerada como un patógeno intracelular facultativo, distribuido ampliamente en la naturaleza, además, es responsable de síndromes gastrointestinales en diferentes especies. La bacteria es capaz de atravesar el epitelio gastrointestinal y evadir la respuesta inmune para causar infecciones localizadas. Entre las proteínas involucradas en la internalización de *Y. pseudotuberculosis* se encuentran las GTPasas Rac y RhoA, quienes participan en procesos de estructuración del citoesqueleto. Se ha observado que la bacteria interacciona con eritrocitos murinos causando deformaciones de la membrana, culminando en la lisis de los eritrocitos, pero se desconocen las causas que provocan estos eventos. En este trabajo analizamos a nivel morfológico y funcional el efecto de la interacción de *Y. pseudotuberculosis* con eritrocitos de ratón, abordando aspectos tales como (i) la morfología de los eritrocitos empleando microscopia confocal (ii), la actividad de las GTPasas Rac.

Materiales y métodos

Se utilizaron ratones hembras de la cepa BALB/c, de 20-25 g de peso (4-6 semanas de edad). Se utilizó un número total de 20 animales que fueron divididos aleatoriamente en los diferentes grupos (control n=10 e infectado n=10); para cada análisis se usaron grupos independientes. La cepa que se utilizó fue *Y. pseudotuberculosis* NCTC 8315 se cultivó en 10 ml de caldo Luria-Bertoni (LB) a 37 °C por 24 h, posteriormente se tomaron 10 µl del precultivo y se inoculó en 10 ml de LB el cual se incubó por 3 h 15 min a 37 °C. Para valorar la virulencia de la cepa, antes de los experimentos de infección de eritrocitos, 1.5 x 10⁸ UFC se inocularon por vía intraperitoneal en un ratón y después de 24 h éste se sacrificó para aislar la cepa en agar CIN. Se utilizó el modelo de infección *in vivo* utilizado por Garibay-Cerdenares (2008), infectando ratones de la cepa BALB/c con 1.5x10⁶ UFC la cepa de *Y. pseudotuberculosis* NCTC 8315 por vía intraperitoneal, se sacrificaron al cabo de 24h post-infección y un modelo de infección *in vitro*

como lo describe Feodorova y Devdariani (2007), con algunas modificaciones, utilizando 6x10⁶ eritrocitos de ratón BALB/c en contacto con 60x10⁶ UFC de la cepa de *Y. pseudotuberculosis* NCTC 8315. Se extrajeron eritrocitos de ratones (ER) sanos de la cepa BALB/c y se purificaron por el método de Ficoll-Hystopaque. Se evaluó la viabilidad celular por el método de Azul de tripano.

El experimento se realizó a 37 °C con una atmósfera de 5% de CO₂ y se recuperaron los eritrocitos a 0, 15, 30 min, y 1 h. Como control se utilizaron eritrocitos a los cuales no se les adicionaron bacterias.

Para los experimentos *in vivo*, se utilizaron 10 ratones de la cepa BALB/c a los que se les inocularon 150 x 10⁶ UFC por vía intraperitoneal en 200 µl de solución salina y como control 10 ratones a los que se les suministraron únicamente 200 µl de solución salina vía intraperitoneal. Los eritrocitos infectados y no infectados (2 x 10⁶) se fijaron con *p*-formaldehído al 4% en PBS durante 1h a 37 °C, se lavaron 3 veces con PBS.

Para la medición de los niveles de RhoA, Cdc42 y Rac activas, se llevó a cabo siguiendo lo establecido en el protocolo de purificación de fosfoproteínas según instrucciones del ensayo Phosphoprotein purification kit, de Quiagen, Cat. No. 37101.

Para la detección de anticuerpos se utilizó, Anti-tirosinas fosforiladas (Abcam, Cat. No. ab10321, Clona PY20), Antifosfotirosina acoplado a HRP (Millipore, Cat. No. ab16389), anti-IgG de ratón acoplado HRP (Pierce, Cat. No. 31430).

El nivel de generación de ROS se estimó por el método de Wan *et al.* (1994), modificado por Wilson *et al.* (2002) utilizando el colorante diacetato de 7-diclorofluoresceína (DCFDA). Todos los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con las reglas de uso y manejo de animales establecido por la Norma Oficial Mexicana para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999) y a los principios éticos para las investigaciones médicas descritos por Helsinki y sus enmiendas (Declaración de Helsinki de la AMM, 2017).

Para sacar las diferencias significativas se analizaron estadísticamente mediante la prueba *t* de Student (*p*<0.05). Todos los análisis

estadísticos se realizaron utilizando el software Stata versión 11.0.

Resultados

Se inoculó la cepa de *Y. pseudotuberculosis* por vía intraperitoneal en ratones BALB/c (Fig. 1a), y transcurridas 24 h se valoró el estado de los ratones (Fig. 1b).

Se utilizó el método de Ficoll-Hypaque para la separación de los eritrocitos del resto de las fracciones celulares, sabiendo que las densidades de diferentes células sanguíneas son: neutrófilos 1.082, linfocitos 1.070, monocitos 1.062 y eritrocitos maduros entre 1,090 y 1,100 g/ml. Se emplearon ficolos de densidades 1.119 y 1.077 g/ml (Fig. 2).

Para la interacción *in vivo* se infectaron 10 ratones de la cepa BALB/c con 1×10^7 UFC de *Y. pseudotuberculosis* NCTC 8315. Como control se utilizaron eritrocitos de ratones no infectados. Los resultados obtenidos por microscopía confocal mostraron la presencia de deformaciones en la membrana de los eritrocitos infectados, las cuales se debían a la presencia de acúmulos de actina F, sugiriendo que la bacteria induce cambios en el rearrreglo del citoesqueleto de espectrina/actina cuando interacciona con el mismo, en contraste con lo observado en el modelo *in vitro* donde a pesar de que se observa interacción de la bacteria con los eritrocitos, estos no mostraron deformaciones en su membrana (Fig. 3 y 4).

Se midieron los niveles de Rac, RhoA y Cdc42 activas; para estos ensayos se utilizaron extractos totales de eritrocitos infectados. Se encontró que la proporción de Rac y RhoA activas se encuentra incrementada en las muestras de ratones infectados (Fig. 5A).

Para medir los niveles de ROS en los eritrocitos infectados empleando CDFDA, se observó un incremento del 30% respecto al control en la cantidad de especies reactivas en los eritrocitos infectados (Fig. 6). Se observó también que en las pastillas de los eritrocitos infectados la intensidad del color rojo se veía incrementada en un 5% respecto del control (Fig. 6B) así como deformaciones en la membrana eritrocitaria (Fig. 6C).

Discusión

En este trabajo se analizó a nivel morfológico y funcional el efecto de la interacción de *Y. pseudotuberculosis* con eritrocitos de ratón. La fosforilación de proteínas en residuos de serina, treonina y tirosina son importantes en la regulación del citoesqueleto del eritrocito, proveyéndolo de flexibilidad. Algunos patógenos intracelulares como *Plasmodium* spp y *Bartonella*

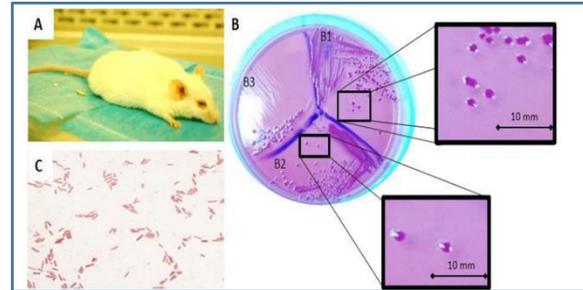


Figura 1. Prueba del fenotipo virulento de la cepa *Y. pseudotuberculosis* NCTC 8315. A) Ratón de la cepa BALB/c inoculado con *Y. pseudotuberculosis*. Al cabo de 24 h de infección se le ve con los parpados y orejas pálidas y movilidad reducida, signo de que la cepa aun es virulenta. B) Cultivo en agar CIN de diferentes regiones anatómicas del ratón después de su sacrificio, B1 proviene del peritoneo, B2 (cola) y B3 (corazón) provienen de una muestra sanguínea. En los tres aislamientos se observan colonias convexas de 1-2 mm, fermentación del manitol positiva con centro rosa y bordes claros en forma de ojo de toro. C) Tinción de Gram de una de las colonias del cultivo B1, se observa la presencia de bacilos Gram negativos.

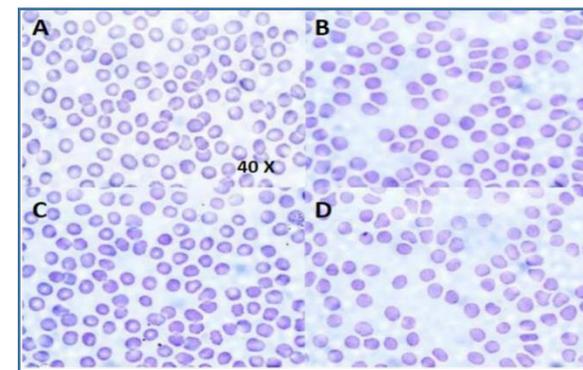


Figura 2. Eritrocitos de ratón purificados por la técnica de Ficoll-Hypaque. A-D imágenes representativas de 4 extendidos teñidos por la técnica de Giemsa observados al microscopio óptico con objetivo 40X.

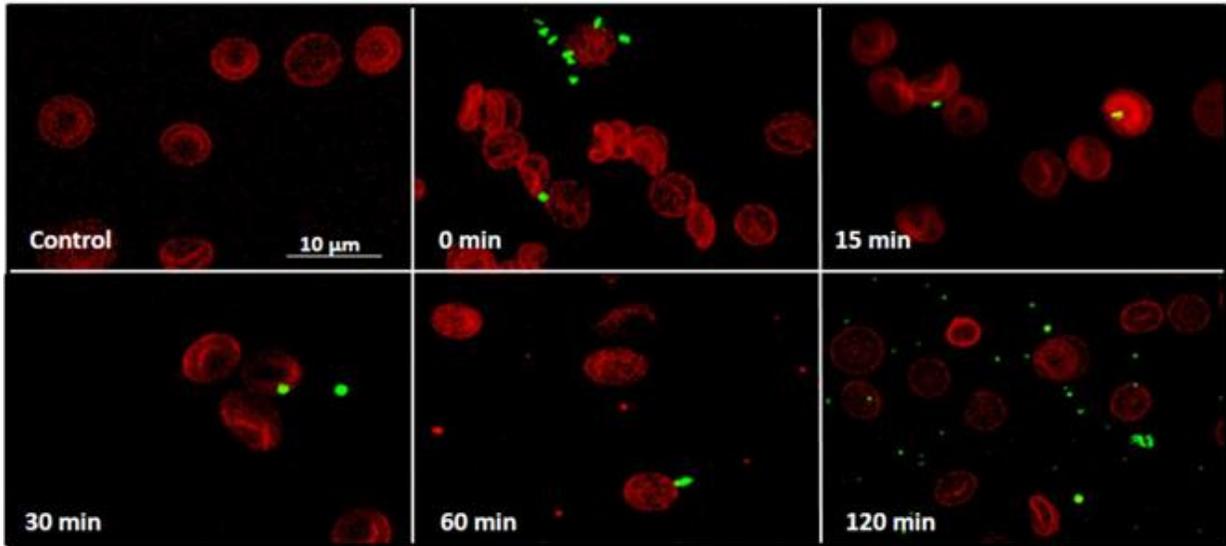


Figura 3. Modelo *in vitro* de infección de eritrocitos de ratón con *Y. pseudotuberculosis*. Se muestran imágenes de microscopía confocal de una cinética de interacción (0-120 min) de eritrocitos de ratón con *Y. pseudotuberculosis*. En rojo se muestra la señal de la Faloidina Rodaminada unida a la actina F y, en verde, la señal del Sytox Green unido al DNA bacteriano.

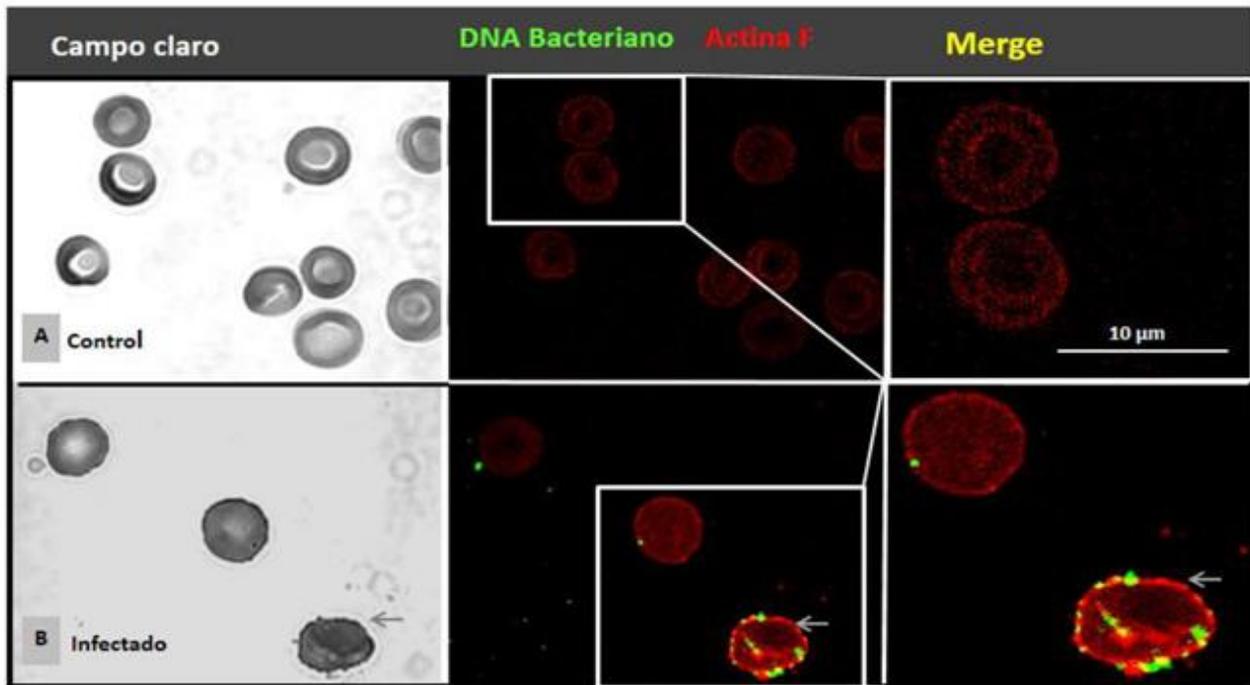


Figura 4. Modelo *in vivo* de infección de eritrocitos con *Y. pseudotuberculosis*. Imágenes de microscopía confocal. A) Eritrocitos de ratones sanos. B) Eritrocitos de ratones después de 24 h de infección. En rojo se muestra la señal de la Faloidina Rodaminada unida a la actina F, en verde, la señal de Sytox Green unido al DNA bacteriano. Las flechas señalan las alteraciones en la membrana de los eritrocitos.

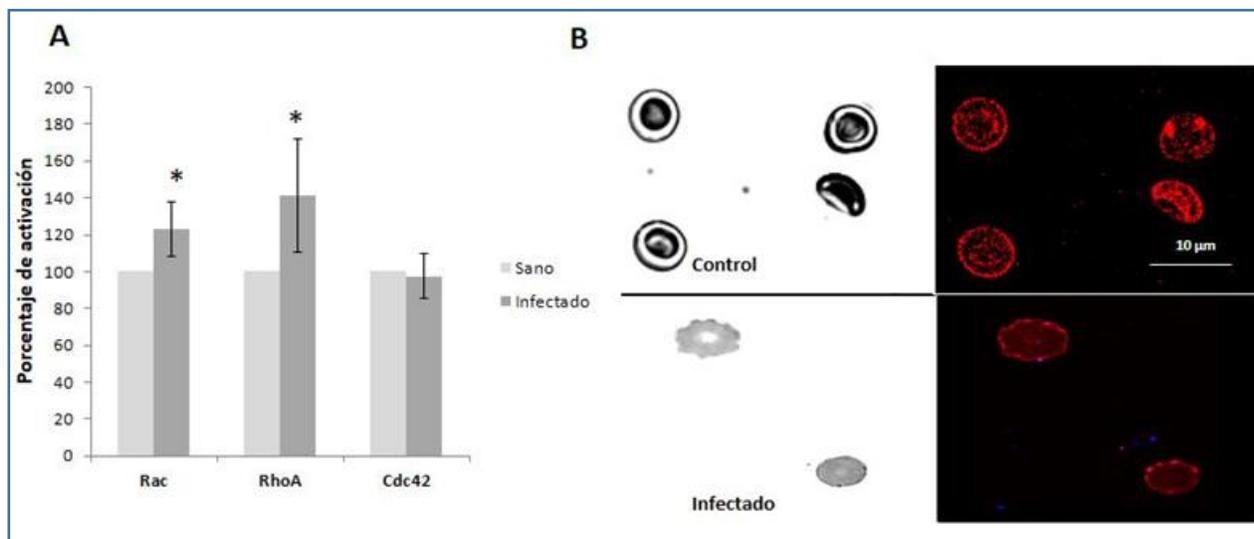


Figura 5. Niveles de activación de GTPasas. A) Se muestra la activación de Rac, Cdc42 y RhoA en eritrocitos de ratones sanos y eritrocitos de ratones infectados con *Y. pseudotuberculosis*. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de *Student* ($* > p = 0.05$). B) Imágenes de microscopía confocal de eritrocitos; en azul se muestra el DNA bacteriano con DAPI, en rojo se muestra a la actina F teñida con Faloidina Rodaminada.

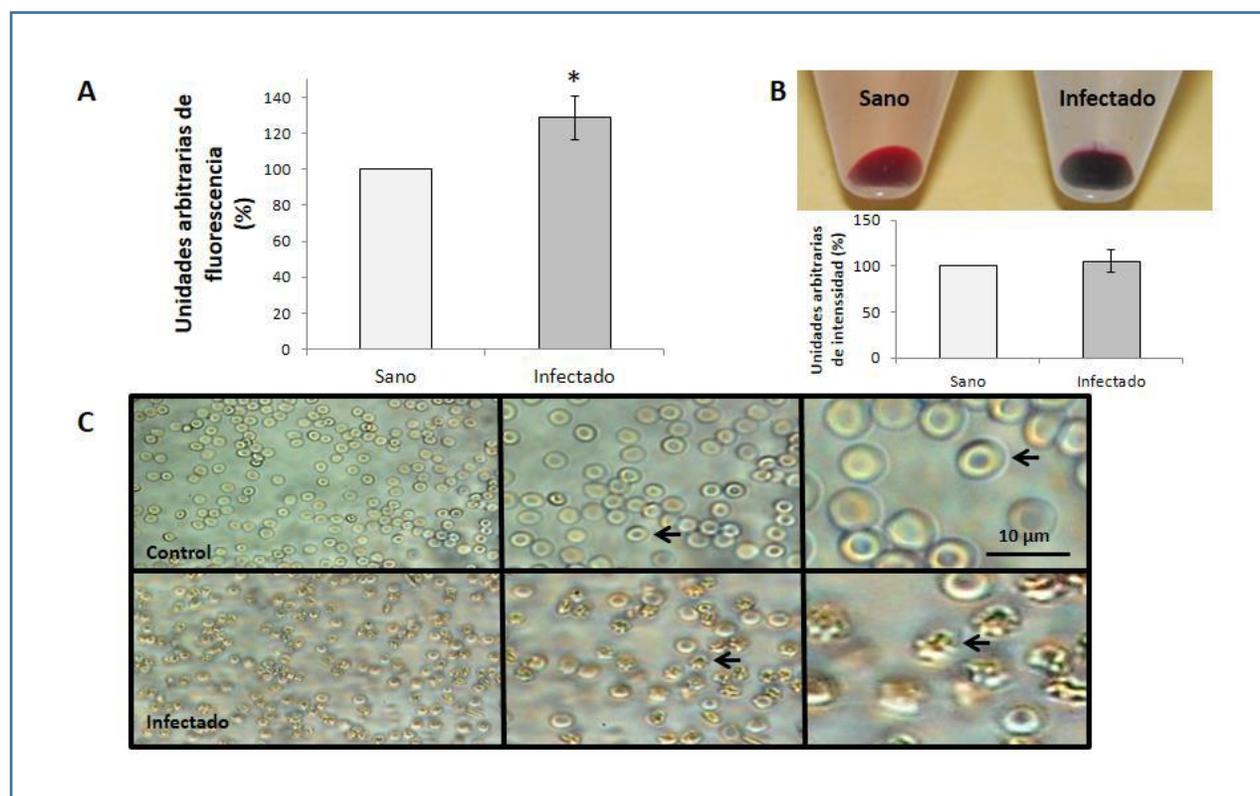


Figura 6. Niveles de ROS en eritrocitos de ratones infectados. A) Representación gráfica de los niveles de las ROS en eritrocitos sanos e infectados; las unidades arbitrarias de fluorescencia se muestran expresadas en porcentaje, tomando como 100% el control sano. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de *Student* ($* > p = 0.05$). B) Muestras de eritrocitos después de ser empastillados para su procesamiento. Bajo la imagen se muestra la intensidad del color rojo. C) Microscopía de luz-campo claro de muestras de eritrocitos de ratones infectados; con flechas se marcan los cambios en la membrana de los eritrocitos respecto al control.

spp interactan con proteínas de la membrana del eritrocito, las cuales sirven de anclaje y por medio de ellas desencadenan cascadas de señalización que tienen como objetivo favorecer su internalización para obtener nutrientes y continuar con su ciclo replicativo dentro de los eritrocitos (Vojtová *et al.*, 2006; Pitassi *et al.*, 2007).

Por otra parte, en nuestro grupo de trabajo Javier-Reyna (2006) demostró la presencia de integrinas $\alpha 5\beta 1$ en la membrana de eritrocitos murinos, así como cambios morfológicos en las membranas de los eritrocitos de ratones infectados con *Y. pseudotuberculosis*, como resultado de la interacción. En este estudio se infectaron ratones con *Y. pseudotuberculosis* y el efecto de la infección sobre los eritrocitos se analizó por microscopía confocal. Así, fue posible demostrar, en forma cualitativa, que las bacterias son capaces de unirse y penetrar a los eritrocitos, fenómeno que hasta la fecha sólo se había observado por microscopía de luz - campo claro, mediante tinciones de Giemsa (Feodorova y Devdariani, 2007; Javier-Reyna, 2006).

En el modelo *in vivo* se logró observar un mayor número de bacterias adheridas a los eritrocitos en comparación a lo observado en el modelo *in vitro*, así como deformaciones en la membrana, con acúmulos de actina F en la periferia de la membrana eritrocitaria. Estos resultados indican que la infección por *Y. pseudotuberculosis*, induce una reestructuración del citoesqueleto de actina. Se sabe que la interacción entre la proteína invasiva de la membrana externa de *Y. pseudotuberculosis* y la integrina $\beta 1$ tiene como efecto una mayor invasión de enterocitos, inducción de la fagocitosis en macrófagos, liberación de NET (por sus siglas en inglés, trampas extracelulares de neutrófilos) en neutrófilos, y en estos procesos se requiere la activación de Rac1 (Gillenius y Urban, 2015). Al medir los niveles de activación de las GTPasas, encontramos que Rac y RhoA se encontraban más activas en los eritrocitos infectados respecto de los controles.

Los resultados de los niveles de Rac activa correlacionan con lo reportado en otras estirpes celulares donde se ha visto que la interacción con la invasiva bacteriana y las integrinas median cascadas de señalización donde participa Rac1 la

cual media la internalización de *Y. pseudotuberculosis*.

Al realizar los ensayos de inmunodetección en fase sólida utilizando un anticuerpo contra proteínas fosforiladas en residuos de tirosina, observamos que en una banda de 57KDa se observa una mayor fosforilación, en la muestra de eritrocitos infectados en comparación con control. Se ha reportado que *Plasmodium falciparum* modifica la fosforilación de proteínas en residuos de serina y tirosina durante su desarrollo a la fase de trofozoito (Wu *et al.*, 2009; Pantaleo *et al.*, 2010a). Sin embargo, en el rango de los 57 kDa se encuentran una gran cantidad de proteínas lo que dificulta inferir de qué proteína se pudiera tratar. Será necesario complementar el presente trabajo con la identificación de proteínas por espectrometría de masas, para saber qué proteínas están siendo afectadas por la infección de eritrocitos por *Y. pseudotuberculosis*.

Al medir los niveles de ROS de los eritrocitos, se encontró que los eritrocitos infectados presentaban un incremento en los niveles de ROS respecto al control.

Conclusiones

Como resultado de la infección de eritrocitos por *Y. pseudotuberculosis*, en el modelo de ratón. Se observan cambios en la morfología y reestructuración de actina en la membrana. Se observaron cambios en el fosfoproteoma de eritrocitos infectados, con incremento de fosforilación en residuos de tirosina.

Referencias

- Bergsbaken, T., Cookson, B.T. (2009). Innate immune response during *Yersinia* infection: critical modulation of cell death mechanisms through phagocyte activation. *Journal of Leukocyte Biology*, 86, 1153-1158.
- Declaración de Helsinki de la ANM (2017). Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/
- El-Maraghi, N., Mair N. (1979). The histopathology of enteric infection with *Yersinia pseudotuberculosis*. *American Journal of Clinical Pathology*, 71, 631-639.

- Feodorova, V.A., Devdariani, Z.L. (2007). The mechanism of interaction between *Yersinia pestis* and erythrocytes, and its importance for the pathogenesis of plague. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk*, 1, 13-21.
- Garibay-Cerdenares, O.L. (2008). Niveles de fosforilación en tirosina en eritrocitos de ratón BALB/c durante un proceso infeccioso provocado por *Yersinia pseudotuberculosis*. Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, 34p.
[OK06400387_TM2006_1.pdf](#)
- Gillenius, E., Urban F.C. (2015). The adhesive protein invasín of *Yersinia pseudotuberculosis* induces neutrophil extracellular traps via $\beta 1$ integrins. *Microbes and Infection*, 17, 327- 336.
- Javier-Reyna, R. (2006). Identificación del receptor integrina- $\beta 1$ en la interacción *Yersinia pseudotuberculosis*-eritrocito como modelo de infección sistémica. Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, 33p.
[UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO \(uagro.mx\)](#)
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
[www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf](#)
- Pantaleo, A., Ferru, E., Carta, F., Mannu, F., Giribaldi, G., Vono, R., Lepedda, A.J., Pippia, P., Turrini, F. (2010a). Analysis of changes in tyrosine and serine phosphorylation of red cell membrane proteins induced by *P. falciparum* growth. *Proteomics*, 10, 3469-3479.
- Pitassi, L.H., Magalhaes, R.F., Barjas-Castro, M.L., de Paula, E.V., Ferreira, M.R., Velho, P.E. (2007) *Bartonella henselae* infects human erythrocytes. *Ultrastructural Pathology*, 31,369-72.
- Vojtová, J., Kofronová, O., Sebo, P., Benada, O. (2006). Bordetella adenylate cyclase toxin induces a cascade of morphological changes of sheep erythrocytes and localizes into clusters in erythrocyte membranes. *Microscopy Research and Technique*, 69,119-129.
- Wan, C.P., Sigh, V., Lau, B.H.S. (1994). A simple fluorometric assay for the determination of cell number. *Journal of Immunological Methods*, 173, 265-272.
- Wilson, R.S., Mendes De Leon, C.F., Barnes, L.L., Schneider, J.A., Bienias, J.L., Evans, D.A., Bennett, D.A. (2002) Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *JAMA*, 287, 742-748.
- Wu, Y., Nelson, M.M., Quail, A., Xia, D., Wastling, J.M., Craig, A. (2009). Identification of phosphorylated proteins in erythrocytes infected by the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Malaria Journal*, 18, 105.

Tlamati Sabiduría



Alimentos con potencial funcional en la prevención de obesidad, diabetes e hipertensión en la dieta mexicana: una revisión sistemática

Ana Isabel Alfaro-Figueroa¹
Javier Jiménez-Hernández¹
Ricardo Salazar-López²
Yanik Ixchel Maldonado-Astudillo^{1*}

¹Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas s/n, Ciudad Universitaria Sur, Col. La Haciendita, C.P. 39070, Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México.

²CONACyT - Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas s/n, Ciudad Universitaria Sur, Col. La Haciendita, C.P. 39070, Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México

*Autor de correspondencia
yimaldonado@uagro.mx

Resumen

El estilo de vida saludable promueve un estado de bienestar, siendo la alimentación balanceada el principal factor que contribuye a un estado saludable y disminuye la incidencia de problemas de sobrepeso, obesidad y sus implicaciones. Los alimentos funcionales son aquellos que, además de sus propiedades nutricionales, contienen bioactivos que promueven la salud del consumidor. El objetivo de este trabajo fue identificar alimentos de la dieta mexicana con potencial funcional relacionados con la prevención de la obesidad, diabetes e hipertensión. Se realizó una revisión sistemática exploratoria de acuerdo con las directrices PRISMA 2020 para responder la pregunta ¿cuáles son los alimentos funcionales con potencial para prevenir la obesidad, diabetes e hipertensión en la dieta mexicana? La búsqueda se realizó durante mayo de 2022 en Pubmed, Redalyc, Scopus y SciELO utilizando descriptores y operadores booleanos. La búsqueda generó

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Alfaro-Figueroa A. I., Jiménez-Hernández J., Salazar-López L., Maldonado-Astudillo Y. I. (2023). Alimentos con potencial funcional en la prevención de obesidad, diabetes e hipertensión en la dieta mexicana: una revisión sistemática. *Tlamati Sabiduría*, 15, 90-103.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; Publicado: 26 de septiembre 2023



352 referencias, de las cuales se incluyeron 22 estudios en la discusión. Los principales compuestos bioactivos identificados fueron antioxidantes, principalmente compuestos polifenólicos como los probióticos y algunos prebióticos como fibras. Se concluye que los principales alimentos de la dieta mexicana con potencial para la prevención o tratamiento de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) como la obesidad, diabetes e hipertensión son las frutas, verduras, leguminosas secas, raíces y tubérculos, hongos, nueces y semillas, productos de origen animal y acuático, lácteos fermentados, bebidas tradicionales fermentadas no alcohólicas e infusiones. La Encuesta Nacional sobre Salud y Nutrición en México recomienda el consumo de algunos de estos alimentos por sus propiedades nutricionales, pero no considera sus propiedades funcionales, además de que excluye diversos productos endémicos, autóctonos y de consumo tradicional en la dieta regional de los mexicanos.

Palabras clave: ECNT, Alimentos funcionales, Alimentos tradicionales mexicanos

Abstract

A healthy lifestyle promotes a state of well-being, being a balanced diet the main factor that contributes to a healthy state and decreases the incidence of overweight and obesity problems and their implications. Functional foods are those that, in addition to their nutritional properties, contain bioactives that promote consumer health. The objective of this work was to identify food in the Mexican diet with functional potential related to the prevention of obesity, diabetes and hypertension. An exploratory systematic review was conducted in accordance with PRISMA 2020 guidelines to answer the question: what are the functional foods with potential to prevent obesity, diabetes and hypertension in the Mexican diet? The search was conducted during May 2022 in Pubmed, Redalyc, Scopus and SciELO using descriptors and Boolean operators. The search generated 352 references, of which, 22 studies were included in the discussion. The main bioactive compounds identified were antioxidants, mainly polyphenolic compounds such as flavonoids, phenolic acids and carotenoids. Also, probiotic microorganisms and some prebiotics such as fibers were identified. It is concluded that the main foods in the Mexican diet with potential for the prevention or treatment of chronic non-communicable diseases (NCDs) such as obesity, diabetes and hypertension are fruits, vegetables, dried legumes, roots and tubers, mushrooms, nuts and seeds, animal and aquatic products, fermented dairy products, traditional fermented non-alcoholic beverages and infusions. The National Survey on Health and Nutrition in México recommends the consumption of some these foods for their nutritional properties but does not consider their functional properties, in addition to excluding several endemic, autochthonous and traditionally consumed products in the regional diet of Mexicans.

Keywords. NCDs, Functional foods, Traditional Mexican Food

Introducción

La alimentación se ha considerado como un factor que influye en la promoción y mantenimiento de la salud (Mariño *et al.*, 2016), es por ello que un estilo de vida en el cual se adquieran hábitos poco saludables puede inducir al desarrollo de sobrepeso y obesidad, considerados como los principales factores de

riesgo de enfermedades crónicas no trasmisibles (ECNT) (Liu, 2013; Ravasco *et al.*, 2011). México ocupa los primeros lugares a nivel mundial en estos padecimientos con el 75.2 % de la población total (Levy *et al.*, 2020) y el sexto lugar a nivel mundial en casos de diabetes, con un total de 12.8 millones de casos en la población mayor de edad (IDF, 2019). De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020

sobre COVID-19, los grupos de edad más vulnerables en estos padecimientos son los niños y adolescentes, en los que la prevalencia nacional de sobrepeso y obesidad en infantes de 5 a 11 años fue de 19 %, mientras que en la población de 12 a 19 años este valor incrementó a 26.8 % con mayor prevalencia de obesidad en comunidades urbanas (Shamah-Levy *et al.*, 2021).

Estas etapas son cruciales en la prevención de las ECNT, pues es donde se desarrollan hábitos que, en muchos casos, serán conservados a lo largo de la vida, entre ellos el consumo excesivo de alimentos y bebidas con alta densidad energética, grasas y azúcares (Aburto *et al.*, 2016), la falta de actividad física (Pietiläinen *et al.*, 2008), el uso prolongado de dispositivos móviles (Ozdalga *et al.*, 2012) o el abuso de sustancias psicoactivas como el alcohol y el tabaco (Gómez-Cruz *et al.*, 2017) que se verán reflejados en el aumento o disminución del índice de masa corporal (IMC). Estos factores de riesgo podrían conducir al desarrollo de trastornos de conducta alimentaria (TCA) (Martínez-González *et al.*, 2014), así como de enfermedades gastrointestinales, cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer como el de colon y de mama (Navarro-Cruz *et al.*, 2017). Es en este contexto que el consumo de alimentos funcionales y otros compuestos bioactivos cobra relevancia.

Los alimentos funcionales se han definido como alimentos que tienen beneficios científicamente probados para mejorar la salud general (Liufu y Martirosyan, 2020). Más allá de las funciones nutricionales básicas, han demostrado que pueden mantener la salud intestinal, regular el sistema inmunológico, reducir el riesgo de obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares (ECV) y de cáncer (Chen *et al.*, 2011; Fang *et al.*, 2018; Hachimura *et al.*, 2018; Navarro-Cruz *et al.*, 2017; Sebastián-Domingo, 2017; Wang *et al.*, 2007). Estos alimentos son una alternativa preventiva para minimizar estos factores de riesgo, pues proporcionan al cuerpo la cantidad necesaria de compuestos bioactivos, entre ellos la fibra, antioxidantes, flavonoides, probióticos, prebióticos, vitaminas, minerales, ácidos grasos, carotenoides, entre otros (Ashaolu, 2019), que podrían influir positivamente en la salud de los individuos que los consumen. Por ello, el objetivo

de este trabajo fue identificar los principales alimentos con potencial funcional relacionados con la prevención de la obesidad, diabetes e hipertensión disponibles en la dieta mexicana.

Diseño Metodológico

Se realizó una revisión sistemática exploratoria de acuerdo con las directrices PRISMA 2020 (Page *et al.*, 2021), con base en la siguiente pregunta estructurada en formato PICO (del inglés *Patient, Intervention, Comparison, Outcome*): ¿Cuáles son los alimentos funcionales con potencial para prevenir la obesidad, diabetes e hipertensión en la dieta mexicana?

La búsqueda se realizó durante el mes de mayo de 2022 en bases de datos electrónicas relevantes en investigación: Pubmed, Redalyc, Scopus y SciELO. La estrategia de búsqueda fue la misma en todas las bases de datos, todas las variables fueron buscadas en idioma inglés y se utilizaron los descriptores y operadores booleanos descritos en la Tabla 1.

| Variable 1 | | Variable 2 | | Variable 3 |
|-----------------------|------------|--------------|------------|------------|
| Functional food | | Obesity | | Mexic |
| OR | | OR | | |
| Functional ingredient | AND | Diabetes | AND | |
| OR | | OR | | |
| Fermented food | | Hypertension | | |
| OR | | | | |
| *biotic | | | | |
| OR | | | | |
| Antioxidant | | | | |

Tabla 1. Estrategia de búsqueda utilizada. AND y OR son operadores booleanos de búsqueda. (*) Operador de truncamiento. Todas las variables fueron utilizadas en inglés.

Criterios de selección

La inclusión de artículos consideró los siguientes criterios: (1) Estudios cuali y cuantitativos, estudios observacionales y descriptivos, (2) artículos científicos o de revisión y (3) artículos publicados en inglés y español con una antigüedad no mayor a 5 años. Para este fin se consideraron alimentos de la dieta mexicana aquellos identificados por [Valerino-Perea et al. \(2019\)](#), así como los pertenecientes a estudios realizados en México con accesiones locales.

Los criterios de exclusión aplicados fueron: (1) Artículos que no dieran respuesta a la pregunta PICO por medio del título y resumen, (2) artículos señalados como poco legibles manualmente y (3) alimentos o productos que sean de difícil acceso para la población mexicana.

Se realizó la búsqueda y extracción de artículos según los criterios previamente descritos y posteriormente se seleccionaron mediante las fases del diagrama de flujo- PRISMA (versión 2020).

Resultados

El proceso de selección de artículos generó 352 referencias (Figura 1), de las cuales se excluyeron 23 artículos por duplicidad, mientras que 255 estudios se excluyeron debido a que el título o resumen planteaban aspectos que no se relacionaban directamente con el tópico de esta revisión y 31 estudios no pudieron ser recuperados en el proceso. Este procedimiento dio lugar a 43 documentos potencialmente relevantes, de los cuales se excluyeron 21 por su poca legibilidad o porque incorporaban alimentos de difícil acceso para la población mexicana. Finalmente se incluyeron y analizaron 22 estudios (Tabla 2) en la discusión, principalmente de PubMed, Redalyc y Scopus.

Los principales compuestos bioactivos identificados fueron los antioxidantes (Tabla 3), entre los cuales destacan los compuestos polifenólicos como los flavonoides y los ácidos fenólicos, así como los carotenoides. Asimismo, se identificaron microorganismos probióticos y algunos prebióticos como fibras. Las principales fuentes de estos bioactivos son las frutas y

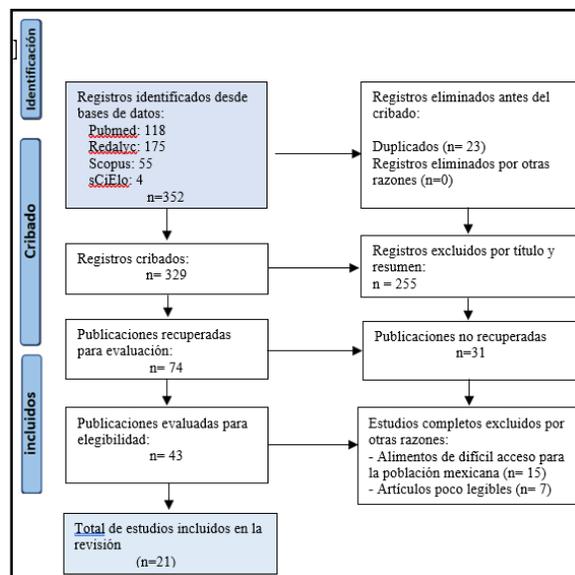


Figura 1. Diagrama de flujo PRISMA (versión 2020) que muestra el proceso de selección de la presente revisión.

vegetales, pero también se identificaron hongos, productos lácteos fermentados y pescados

Discusión

Los compuestos bioactivos presentes en los alimentos han demostrado un alto potencial para prevenir el desarrollo de diversas enfermedades. Los principales alimentos ricos en compuestos fenólicos son las frutas, como las fresas ([Oviedo-Solís et al., 2018](#)), naranjas y tejocotes ([Cervantes-Paz et al., 2018](#)), verduras, cereales integrales, café, ajo y té verde ([Alagawany et al., 2020](#)). La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020 sobre COVID-19 ([Shamah-Levy et al., 2021](#)) clasifica a los alimentos y bebidas de acuerdo con sus características nutricionales y su relevancia para la salud. Entre los alimentos recomendados se encuentran las frutas, verduras, leguminosas, huevo, carne no procesada, lácteos, nueces y semillas y agua sola (Tabla 4); sin embargo, se excluye de este listado a muchos alimentos autóctonos, endémicos y de consumo tradicional en la gastronomía mexicana como las variedades criollas o silvestres de frutas y

| Autor | Título | Revista | Base de datos |
|---|--|---------------------------|---------------|
| Kababie-Ameo <i>et al.</i> (2022) | Potential applications of cocoa (<i>Theobroma cacao</i>) on diabetic neuropathy: mini-review. | Front Biosci | Pubmed |
| Pérez-Torres <i>et al.</i> (2021) | Oxidative Stress, Plant Natural Antioxidants, and Obesity. | Int J Mol Sci | Pubmed |
| Escalante-Araiza y Gutiérrez-Salmeán (2021) | Traditional Mexican foods as functional agents in the treatment of cardiometabolic risk factors. | Crit Rev Food Sci Nutr | Pubmed |
| Uuh-Narvaez y Segura-Campos (2021) | Cabbage (<i>Brassica oleracea</i> var. capitata): A food with functional properties aimed to type 2 diabetes prevention and management. | J Food Sci | Pubmed |
| Zepeda-Hernández <i>et al.</i> (2021) | Probiotics, prebiotics, and synbiotics added to dairy products: Uses and applications to manage type 2 diabetes. | Food Res Int | Pubmed |
| Das <i>et al.</i> (2021) | <i>Cordyceps spp.</i> : A Review on Its Immune-Stimulatory and Other Biological Potentials. | Front Pharmacol | Pubmed |
| Villa-Rivera y Ochoa-Alejo (2020) | Chili Pepper Carotenoids: Nutraceutical Properties and Mechanisms of Action. | Molecules | Pubmed |
| Moreno-Valdespino <i>et al.</i> (2020) | Bioactive proteins and phytochemicals from legumes: Mechanisms of action preventing obesity and type-2 diabetes. | Food Res Int | Pubmed |
| Calderón <i>et al.</i> (2020) | Consumption of cooked common beans or saponins could reduce the risk of diabetic complications. | Diabetes Metab Syndr Obes | Pubmed |
| Gómez-Maqueo <i>et al.</i> (2020) | Phenolic Compounds in Mesoamerican Fruits—Characterization, Health Potential and Processing with Innovative Technologies. | Int J Mol Sci | Redalyc |
| Yanowsky Escatell <i>et al.</i> (2020) | The role of dietary antioxidants on oxidative stress in diabetic nephropathy. | Iran J Kidney Dis | Redalyc |
| Alagawany <i>et al.</i> (2020) | Nutritional applications and beneficial health applications of green tea and l-theanine in some animal species: A review. | J Anim Physiol Anim Nutr | Redalyc |
| Sánchez-Gloria <i>et al.</i> (2020) | Nutraceuticals in the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension | Int J Mol Sci | Redalyc |

| | | | |
|--|---|------------------------------|---------|
| Oviedo-Solís <i>et al.</i> (2018) | Los polifenoles de la fresa disminuyen el estrés oxidativo en enfermedades crónicas. | Gac Med Mex | Redalyc |
| Santos-Díaz <i>et al.</i> (2017) | <i>Opuntia spp.</i> : Characterization and Benefits in Chronic Diseases. | Oxid Med Cell Longev. | Redalyc |
| Cervantes-Paz <i>et al.</i> (2018) | Compuestos fenólicos de tejocote (<i>Crataegus spp.</i>): su actividad biológica asociada a la protección de la salud humana. | Revista Fitotecnia Mexicana | Redalyc |
| Vidal <i>et al.</i> (2018) | Propiedades nutrimentales del camote (<i>Ipomoea batatas L.</i>) y sus beneficios en la salud humana. | Rev Iber de Tec Postcosecha | Scopus |
| Ariza-Flores <i>et al.</i> (2017) | Características bioquímicas y calidad nutracéutica de cinco variedades de jamaica cultivadas en México. | Rev Mex Ciencias Agr | Scopus |
| Milán-Carrillo <i>et al.</i> (2017) | Bebida funcional con potencial antidiabético y antihipertensivo elaborada con maíz azul y frijol negro bioprocesados. | Revista Fitotecnia Mexicana | Scopus |
| Carrera-Lanestosa <i>et al.</i> (2017) | Stevia rebaudiana Bertoni: A Natural Alternative for Treating Diseases Associated with Metabolic Syndrome. | J Med Food | Scopus |
| Kriss <i>et al.</i> (2018) | Yogurt consumption during pregnancy and preterm delivery in Mexican women: A prospective analysis of interaction with maternal overweight status. | Maternal and Child Nutrition | Scopus |

Tabla 2. Descripción de los estudios incluidos en la presente revisión sistemática exploratoria.

| Autor | Compuesto bioactivo | Alimento | Indicador de salud |
|--|---|--|-----------------------------|
| Kababie-Ameo <i>et al.</i> (2022) | Flavonoides, incluyendo flavanoles como la catequina y la epicatequina | Cacao (<i>Theobroma cacao</i>) | Neuropatía diabética |
| Pérez-Torres <i>et al.</i> (2021) | Polifenoles, flavonoides, carotenoides, isoflavonas y vitaminas | Frutas, verduras, legumbres y mariscos | Obesidad |
| Escalante-Araiza, Gutiérrez-Salmeán (2021) | Fibras, polifenoles, flavonoides, carotenoides, prebióticos, antocianinas y vitaminas | Frijol, maíz, nopal, aguacate, chíá, chile, tuna y cacao | Riesgo cardiometabólico |
| Uuh-Narvaez, Segura-Campos (2021) | Vitaminas (C, K y A), fibra, compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas | Col (<i>Brassica oleracea</i> var. capitata) | Diabetes mellitus tipo 2 |
| Zepeda-Hernández <i>et al.</i> (2021) | Probióticos, prebióticos y simbióticos. <i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. bifidum</i> y <i>B. longum</i> | Lácteos fermentados (yogurt, leche fermentada y queso) | Diabetes tipo 2 |
| Das <i>et al.</i> (2021) | Flavonoides y compuestos fenólicos | Hongo <i>Cordyceps</i> spp. | Potencial inmunoestimulante |

| | | | |
|--|---|--|--|
| Villa-Rivera, Ochoa-Alejo (2020) | Carotenoides (β -caroteno, zeaxantina y capsantina) | Chile | Obesidad |
| Moreno-Valdespino <i>et al.</i> (2020) | Compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, carotenoides y saponinas | Leguminosas (Frijol, lenteja, soja, guisantes y garbanzos) | Obesidad y diabetes tipo 2 |
| Calderón <i>et al.</i> (2020) | Saponinas | Frijoles | Complicaciones diabéticas |
| Gómez-Maqueo <i>et al.</i> (2020) | Flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, ligninas y estilbenoides | Frutas y variedades de Chile | Obesidad y síndrome metabólico |
| Yanowsky-Escatell <i>et al.</i> (2020) | Resveratrol, curcumina, catequinas y coenzima Q | Uvas, soya, carne, el pescado, los frutos secos y aceites | Nefropatía diabética |
| Alagawany <i>et al.</i> (2020) | Polifenoles y flavonoides | Té verde (<i>Camellia sinensis</i>) | Enfermedades hepáticas y cardíacas |
| Sánchez-Gloria <i>et al.</i> (2020) | Flavonoides (flavonas e isoflavonas) y quercetina | Soja, naranjas, tomates, cebollas etc. | Hipertensión arterial pulmonar |
| Oviedo-Solís <i>et al.</i> (2018) | Antocianinas, flavonoles y vitaminas | Fresas | Enfermedades crónicas |
| Santos-Díaz <i>et al.</i> (2017) | Flavonoides, catequina y quercetina | Nopal (<i>Opuntia</i> spp.) | Enfermedades crónicas |
| Cervantes-Paz <i>et al.</i> (2018) | Flavonoides como flavonoles, flavonas y procianidinas | Tejocote (<i>Crataegus</i> spp.) | Enfermedades cardiovasculares |
| Vidal <i>et al.</i> (2018) | Fibra y vitaminas | Camote (<i>Ipomoea batatas</i> L.) | Enfermedades cardiovasculares |
| Ariza-Flores <i>et al.</i> (2017) | Taninos, flavonoides, antocianinas y fenoles | Jamaica (<i>Hibiscus</i>) | Potencial antioxidante |
| Milán-Carrillo <i>et al.</i> (2017) | Antocianinas, fibra soluble y compuestos fenólicos | Maíz y frijol | Potencial antihipertensivo y antidiabético |
| Carrera-Lanestosa <i>et al.</i> (2017) | Terpenos, taninos, vitaminas, carotenos y flavonoides | <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni | Síndrome metabólico |
| Kriss <i>et al.</i> (2018) | Probióticos | Yogurt | Sobrepeso materno |

Tabla 3. Alimentos y compuestos bioactivos e indicador de salud con el cual está relacionados su efecto funcional.

verduras, los insectos comestibles, alimentos y bebidas fermentadas, entre otros, cuyo consumo se está desplazado de manera alarmante por la inclusión de alimentos exógenos, particularmente en las comunidades rurales, donde el consumo de alimentos procesados, comida rápida y bebidas azucaradas son equiparables a los observados en las zonas urbanas, lo que tiene implicaciones graves no solo en la riqueza biocultural del país, sino también en la salud de la población (Shamah-Levy *et al.*, 2021; García-Vázquez *et al.*, 2022).

Dentro de los alimentos de mayor consumo en México se encuentran el maíz y el frijol, que constituyen gran parte de la gastronomía y cultura del país. En las variedades de maíz pigmentado se

han reportado contenido de ácidos fenólicos, antocianinas y carotenoides (Gaxiola-Cuevas *et al.*, 2017), en la variedad de maíz azul, por ejemplo, se encuentran compuestos fenólicos, antocianinas y fibras solubles (Milán-Carrillo *et al.*, 2017), mientras que en el maíz negro tiene efecto antioxidante y antiproliferativo contra líneas celulares de cáncer de mama (Maldonado-Astudillo *et al.*, 2021). En el frijol se ha identificado un alto contenido de saponinas; que podrían reducir el riesgo de complicaciones diabéticas (Calderón *et al.*, 2020) y de otros ingredientes funcionales, entre ellos fibras, fenoles, antocianinas, taninos y flavonoides. Escalante-Araiza y Gutiérrez-Salmeán (2021)

| Grupo de alimento | Alimento recomendado* | Otros alimentos** |
|-------------------------------------|---|---|
| Frutas | Durazno/melocotón, fresa, guayaba, limón, mango, manzana, pera, melón, sandía, naranja, mandarina, papaya, piña, plátano, toronja, uvas, pepino | Ciruela mexicana, anonáceas (guanábana, ilama, entre otras), zapotáceas (zapote negro, mamey, chicozapote, entre otras), tuna y xoconostle, piñuela, arándanos y otras bayas, nanche, tejocote, capulín, pitahaya, granada, tamarindo |
| Verduras | Aguacate, brócoli, coliflor, calabacita, cebolla, chayote, chile poblano, chile seco, col, ejotes, elote, jitomate, lechuga, nopales, chicharo y hojas verdes (acelgas, espinacas y quelites) | Betabel, chiles criollos, hierbas aromáticas, guaje, chaya, vainilla, chilacayote, sábila |
| Leguminosas secas | Frijoles, lenteja, garbanzo, haba y alubia | Frijoles criollos, maíces pigmentados, soja |
| Raíces y tubérculos | Jícama y zanahoria | Jengibre, camotes, yuca, tubérculos silvestres autóctonos como el chinchayote y pochote |
| Hongos | Champiñones | Setas, huitlacoche y otros agaricales (portobello, cremini), hongos silvestres comestibles |
| Nueces y semillas | Nuez, almendra, avellana, cacahuete, semilla de calabaza (pepita) o de girasol, pistache, piñón, etc. | Cacao, amaranto (fresco o seco), chía |
| Productos de origen animal y marino | Huevo, carne de puerco, res y pollo. Pescados (atún, sardina, charales y bacalao) y mariscos (camarón, ostión, etc.) | Carnes fermentadas, salmón y trucha. Insectos comestibles (chapulín, jumil, escarabajos, escamoles, gusanos, etc.). Algas marinas. |
| Lácteos | Leche, quesos (fresco o cottage, panela, chihuahua, manchego, gouda, etc.), yogurt de vaso (natural, light y con fruta) | Yogurt natural, kéfir o búlgaros, leche fermentada, quesos fermentados o adicionados con cepas probióticas |
| Bebidas*** | - - | Jamaica (infusión y residuos), té verde, café, kombucha, tepache, pulque, tuba, colonche, xocoatole y otras bebidas fermentadas no alcohólicas |

Tabla 4. Alimentos recomendados en la dieta mexicana por sus características nutricionales y potencial funcional.

reportan verduras como aguacate, chile y semillas de chía que contienen también estos ingredientes, además de prebióticos, β - carotenos, luteína y vitaminas como agentes funcionales para mejorar el estado metabólico en fenotipos de riesgo cardiometabólico.

Los flavonoides son el grupo más grande de los compuestos fenólicos, entre los que destacan las antocianinas (delfinidina-glucósido y cianidina-glucósido), estas se encuentran mayormente en

leguminosas como frijol, lenteja, soja, guisantes, habas y garbanzos, junto con otros componentes bioactivos podrían reducir el riesgo de desarrollar ENT, como la obesidad y la diabetes tipo 2 (Moreno-Valdespino *et al.*, 2020). La jamaica es una flor originaria de África pero ampliamente consumida en México, donde la infusión de sus cálices deshidratados forma parte de la cultura popular y sus tradiciones, además de ser reconocida por su alto aporte de antocianinas; sin embargo, el proceso de secado puede afectar significativamente su concentración (Maldonado-Astudillo *et al.*, 2019), además de que su bioaccesibilidad se puede ver limitada por la interacción de estos compuestos con la fibra del cáliz, por lo que se sugiere consumir no solo la infusión, sino también los residuos de la decocción como fuente de compuestos bioactivos como ácido gálico, cafeico y clorogénico y de fibra dietaria (Mercado-Mercado *et al.*, 2015).

Otros productos de amplio consumo y tradición en la dieta mexicana son el tomate o jitomate, el cual posee un alto contenido de licopeno; el chile mexicano (*Capsicum annuum* L.), del que se conocen más de 20 morfotipos cultivados y que es rico en carotenoides, flavonoides y sobre todo capsaicinoides, responsables de la pungencia y con efectos benéficos contra diversos padecimientos y antiobesidad (Hernández-Pérez, *et al.*, 2020; Villa-Rivera y Ochoa-Alejo, 2020); y la cebolla, que es la fuente más importante de quercetina en la dieta humana (D'Andrea, 2015) y junto con otros flavonoides podrían prevenir la hipertensión arterial pulmonar (Sánchez-Gloria *et al.*, 2020).

El consumo de raíces y tubérculos es parte de la dieta tradicional mexicana, donde se destaca el camote (*Ipomoea batatas* L.), la jícama (*Pachyrhizus erosus*) y la yuca (*Manihot esculenta*) porque son originarias o domesticadas en México; sin embargo, se estima que hay más de 14 variedades de raíces y tubérculos comestibles solo en Yucatán (Hernández-Guzmán *et al.*, 2022), entre las variedades silvestres consumidas en Guerrero y poco conocidas se encuentra el tubérculo de la ceiba o pochote (*Ceiba aesculifolia* subsp. *parvifolia*), que tiene alta concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante,

principalmente en la cáscara (Suástegui-Baylón, 2021). El camote y la Stevia (*rebaudiana Bertoni*) son ricos en fibras y vitaminas (Vidal *et al.*, 2018), además la Stevia contiene terpenos, taninos y carotenos que pueden servir como tratamiento natural y alternativo para las enfermedades asociadas al síndrome metabólico (Carrera-Lanestosa *et al.*, 2017).

Por otro lado, México tiene una amplia tradición micófila. Los pueblos originarios son quienes poseen el mayor reservorio de saberes con respecto a la diversidad de hongos, sobre todo silvestres y su potencial medicinal, mientras que en las poblaciones urbanas la oferta de hongos se centra principalmente en especies de los géneros *Agaricus* (champiñón y portobello) y *Pleurotus* spp. (setas) y en menor medida, el huitlacoche (*Ustilago maydis*). Además de su alto contenido nutrimental, los hongos contienen compuestos polifenólicos como flavonoides, lignanos, ácidos fenólicos y triterpenos con actividad antioxidante, anticancerígena, antiglicémica, entre otras; además de fibras y lectinas reconocidas por su capacidad hipoglucémica y antitumoral (Ceron-Guevara *et al.*, 2020).

El cacao (*Theobroma cacao*) está compuesto por polifenoles, incluyendo flavanoles como la catequina y la epicatequina (Kababie-Ameo *et al.*, 2022). Por su parte, Gómez-Maqueo *et al.* (2020) señalan que el consumo de catequinas puede disminuir la hiperglucemia, dicha alteración está implicada en la neuropatía diabética a consecuencia de la diabetes. Se reportó además que en verduras como zanahoria, calabaza, tomate, brócoli, espinaca, chabacano y mandarina, así como en ciertos mariscos como el salmón, los cangrejos y la langosta (Pérez-Torres *et al.*, 2021) se encuentran grandes cantidades de carotenoides que protegen contra el síndrome metabólico, las ECV y el cáncer, a través de su papel como agentes antioxidantes y antiinflamatorios (Agarwal *et al.*, 2012).

Entre los productos de origen animal, el huevo resalta por su contenido de ácidos grasos omega-3; sin embargo, su consumo debe ser moderado debido a su aporte de colesterol y de agentes contaminantes en huevos provenientes de granjas de producción intensiva. Los omega-3 y 9 son ácidos grasos poliinsaturados, han sido

reconocidos por su potencial efecto reductor del riesgo de desórdenes cardiovasculares y cáncer. Además de los huevos, otros alimentos que son fuente importante de este tipo de bioactivos son los aceites vegetales y los pescados frescos como el salmón, anchoa, sardina, arenque, entre otros (Usyduş y Szlider-Richert, 2012). Aunque algunas de estas especies no son comunes en la dieta mexicana, ciertas poblaciones de clima frío de México incluyen en su dieta tradicional la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), que además de tener ácidos grasos omega también se han reportado péptidos bioactivos con propiedades antioxidantes y anticancerígenas (Yaghoubzadeh *et al.*, 2020). Otros productos marinos que se han reconocido como fuente importante de compuestos bioactivos como clorofila, carotenoides y compuestos polifenólicos son las algas, entre las que destacan la espirulina, chlorella y el alga nori, que es parte imprescindible de la dieta asiática y que se ha popularizado en la dieta mexicana y global.

Finalmente, pero no menos importante, se encuentran los probióticos. La definición concensada de probiótico los refiere como “microorganismos vivos que, cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio al huésped” (Hill *et al.*, 2014). Esto implica que, para ser llamado probiótico, se debe tener considerable evidencia científica del efecto que el microorganismo confiere a la salud del huésped, además de la cepa específica y la dosis en la que ejerce dicho efecto. Por este motivo, no todos los productos fermentados pueden ser considerados probióticos, dado que en la mayoría de los alimentos fermentados tradicionales el inóculo está conformado por consorcios de bacterias, hongos, protistas y otros microorganismos cuya composición varía ampliamente durante el proceso de producción, el cual usualmente no se estandariza. No obstante, se han demostrado efectos bacteriostáticos y bactericidas contra bacterias patógenas, efectos antiinflamatorios, antitumorales, hipocolesterolémicos, entre otros (Pérez-Armendáriz y Cardoso-Ugarte, 2020).

Se han reportado diversas cepas con actividad probiótica, entre las que destacan los lactobacilos y las bifidobacterias, cuyas funciones benéficas se

asocian principalmente a la salud gastrointestinal y la prevención del cáncer de colon; adicionalmente, estudios recientes han demostrado que algunas cepas solas o en combinación con sustancias prebióticas (simbióticos) o sus componentes celulares (postbióticos) tienen efecto en la prevención de COVID-19 (Anwar *et al.*, 2021) o en el tratamiento de desórdenes metabólicos, entre ellos la obesidad, hipertensión, diabetes mellitus, entre otros padecimientos (Bourebaba *et al.*, 2022). En esta revisión se identificaron estudios que demuestran que algunas bacterias ácido lácticas como *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus*, *B. lactis*, *B. bifidum* y *B. longum* adicionadas en productos lácteos fermentados tienen efecto en el control de la diabetes tipo 2 (Zepeda-Hernández *et al.*, 2021) y el sobrepeso materno (Kriss *et al.*, 2018).

Conclusiones

Los principales alimentos de la dieta mexicana con potencial para la prevención o tratamiento de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) como la obesidad, diabetes e hipertensión que fueron identificados en este trabajo son las frutas, verduras, leguminosas secas, raíces y tubérculos, hongos, nueces y semillas, productos de origen animal y marino, lácteos fermentados y bebidas tradicionales fermentadas no alcohólicas e infusiones. Los principales bioactivos con potencial para prevenir estos padecimientos son los compuestos fenólicos (principalmente los flavonoides y ácidos fenólicos), carotenoides y otros antioxidantes, fibras y microorganismos probióticos y sus productos.

De acuerdo con la Encuesta Nacional sobre Salud y Nutrición (ENSANUT), se recomienda el consumo de estos alimentos principalmente por sus propiedades nutricionales; sin embargo, es necesario profundizar el conocimiento sobre las propiedades funcionales que varios de ellos poseen y fomentar el consumo de alimentos y productos endémicos, autóctonos y de consumo tradicional en la dieta regional de los mexicanos.

Referencias

Aburto, T.C., Pedraza, L.S., Sánchez-Pimienta,

T.G., Batis, C., Rivera, J.A. (2016). Discretionary foods have a high contribution and fruit, vegetables, and legumes have a low contribution to the total energy intake of the Mexican population. *The Journal of Nutrition*, 146, 1881S-1887S.

Agarwal, M., Parameswari, R.P., Vasanthi, H.R., Das, D.K. (2012). Dynamic Action of Carotenoids in Cardioprotection and Maintenance of Cardiac Health. *Molecules*, 17, 4755–4769.

Alagawany, M., Abd El-Hack, M.E., Saeed, M., Naveed, M., Arain, M.A., Arif, M., Tiwari, R., Khandia, R., Khurana, S.K., Karthik, K., Yattoo, M.I., Munjal, A., Bhatt, P., Sharun, K., Iqbal, H. M.N., Sun, C., Dhama, K. (2020). Nutritional applications and beneficial health applications of green tea and l-theanine in some animal species: A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 104, 245-256.

Anwar, F., Altayb, H.N., Al-Abbasi, F.A., Al-Malki, A.L., Kamal, M.A., Kumar, V. (2021). Antiviral effects of probiotic metabolites on COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39, 4175-4184.

Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Michel-Aceves, A.C., Barrios-Ayala, A., Otero-Sánchez, M.A., Avendaño-Arrazate, C.H., Noriega-Cantú, D.H. (2017). Características bioquímicas y calidad nutracéutica de cinco variedades de jamaica cultivadas en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8, 269-280.

Ashaolu, T.J. (2019). A review on selection of fermentative microorganisms for functional foods and beverages: the production and future perspectives. *International Journal of Food Science & Technology*, 54, 2511-2519.

Bourebaba, Y., Marycz, K., Mularczyk, M., Bourebaba, L. (2022). Postbiotics as potential new therapeutic agents for metabolic disorders management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113138.

Calderón G.D., Juárez-Olguín, H., Veloz-Corona, Q., Ortiz-Herrera, M., Osnaya-Brizuela, N., Barragán-Mejía, G. (2020). Consumption of cooked common beans or saponins could reduce the risk of diabetic complications. *Diabetes*,

- Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy 3481-3486.
- Carrera-Lanestosa, A., Moguel-Ordóñez, Y., Segura-Campos, M. (2017). Stevia rebaudiana Bertoni: A Natural Alternative for Treating Diseases Associated with Metabolic Syndrome. *Journal of medicinal food*, 20, 933-943.
- Ceron-Guevara, M., López, E.M.S., Ortega, I.S., Vargas, E.R., Ávila, J.A.R., Ortega, I.S.I. (2020). Hongos comestibles: Una alternativa saludable en productos cárnicos. *PADI Boletín Científico De Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 7, 47-51.
[4973-Manuscrito-25610-1-10-20191107.pdf](#)
- Cervantes-Paz, B., Ornelas-Paz, J.J., Gardea-Béjar, A.A., Yahia, E.M., Rios-Velasco, C., Zamudio-Flores, P.B., Ruiz-Cruz, S., Ibarra-Junquera, V. (2018). Compuestos fenólicos de tejocote (*Crataegus spp.*): su actividad biológica asociada a la protección de la salud humana. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41, 339-349.
- Chen, Z., Chen, J., Collins, R., Guo, Y., Peto, R., Wu, F., Li, L. (2011). China Kadoorie Biobank of 0.5 million people: survey methods, baseline characteristics and long-term follow-up. *International Journal of Epidemiology*, 40, 1652-1666.
- D'Andrea, G. (2015). Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia*, 106, 256-271.
- Das, G., Shin, H.S., Leyva-Gómez, G., Prado-Audelo, M.L.D., Cortes, H., Singh, Y.D., Panda, M.K., Mishra, A.P., Nigam, M., Saklani, S., Chaturi, P.K., Martorell, M., Cruz-Martins, N., Sharma, V., Garg, N., Sharma, R., Patra, J.K. (2021). *Cordyceps spp.*: A Review on Its Immune-Stimulatory and Other Biological Potentials. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 2250.
- Escalante-Araiza, F., Gutiérrez-Salmeán, G. (2021). Traditional Mexican foods as functional agents in the treatment of cardiometabolic risk factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61, 1353-1364.
- Fang, W., Qu, X., Shi, J., Li, H., Guo, X., Wu, X., Liu, Y., Li, Z. (2018). Cruciferous vegetables and colorectal cancer risk: a hospital-based matched case-control study in Northeast China. *European Journal of Clinical Nutrition*, 73, 450-457.
- García-Vázquez, R., López-Santiago, M.A., Valdivia-Alcalá, R., Sánchez-Toledano, B.I. (2022). Use of traditional food and proposal for the dish of good eating for the Totonac region. *Agro Productividad*.
- Gaxiola-Cuevas, N., Mora-Rochín, S., Cuevas-Rodríguez, E.O., León-López, L., Reyes-Moreno, C., Montoya-Rodríguez, A., Milán-Carrillo, J. (2017). Phenolic Acids Profiles and Cellular Antioxidant Activity in Tortillas Produced from Mexican Maize Landrace Processed by Nixtamalization and Lime Extrusion Cooking. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72, 314-320.
- Gómez-Cruz, Z., Landeros-Ramírez, P., Noa-Pérez, M., Patricio-Martínez, S. (2017). Consumo de alcohol, tabaco, drogas, universitarios. *Revista de Salud Pública y Nutrición*, 16, 1-9.
- Gómez-Maqueo, A., Escobedo-Avellaneda, Z., Welti-Chanes, J. (2020). Phenolic Compounds in Mesoamerican Fruits—Characterization, Health Potential and Processing with Innovative Technologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 8357.
- Hachimura, S., Totsuka, M., Hosono, A. (2018). Immunomodulation by food: impact on gut immunity and immune cell function. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 82, 584-599.
- Hernández-Guzmán, H., Aguilar-Cordero, W.J., Gómez-Varela, C.S. (2022). Uso y manejo de raíces y tubérculos comestibles nativos en una comunidad maya de Yucatán, México. *Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 32, 1-27.
- Hernández-Pérez, T., Gómez-García, M.D.R., Valverde, M.E., Paredes-López, O. (2020). *Capsicum annum* (hot pepper): An ancient Latin-American crop with outstanding bioactive compounds and nutraceutical potential. A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19, 2972-2993.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C., Sanders, M.E. (2014). The International

- Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 11, 506-514.
- INEGI. (2020). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19. Resultados nacionales. Instituto Nacional de Geografía e Informática, ensanut_2018_informe_final.pdf (insp.mx)
- IDF. (2019). Diabetes Atlas, 9th edn. Brussels, Belgium. *In Atlas de la Diabetes de la FID*. International Diabetes Federation <https://diabetesatlas.org/atlas/ninth-edition/>
- Kababie-Ameo, R., Rabadán-Chávez, G.M., Vázquez-Manjarrez, N., Gutiérrez-Salmeán, G. (2022). Potential applications of cocoa (*Theobroma cacao*) on diabetic neuropathy: mini-review. *Frontiers in Bioscience*, 27, 57.
- Kriss, J. L., Ramakrishnan, U., Beaugard, J.L., Phadke, K., Stein, A.D., Rivera, J.A., Omer, S.B. (2018). Yogurt consumption during pregnancy and preterm delivery in Mexican women: A prospective analysis of interaction with maternal overweight status. *Maternal and Child Nutrition*, 14, e12522.
- Levy, T.S., Rivera-Dommarco, J., Bertozzi, S. (2020). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: análisis de sus principales resultados. *Salud pública de México*, 62, 614-617.
- Liu, R.H. (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Advances in Nutrition*, 4, 384S-392S
- Liufu, J., Martirosyan, D. (2020). FFC's Advancement of the Establishment of Functional Food Science. *Functional Foods in Health and Disease*, 10, 344-356.
- Maldonado-Astudillo, Y.I., Gutiérrez-González, A.A., Flores-Rogel, Y.L., Arámbula-Villa, G., Flores-Casamayor, V., Jiménez-Hernández, J., Ramírez, M., Álvarez-Fitz, P., Salazar, R. (2021). Propiedades morfológicas, fisicoquímicas y actividad antiproliferativa de maíces pigmentados de Guerrero. *Nova scientia*, 13, 1-26.
- Maldonado-Astudillo, Y.I., Jiménez-Hernández, J., Arámbula-Villa, G., Flores-Casamayor, V., Álvarez-Fitz, P., Ramírez-Ruano, M., Salazar, R. (2019). Effect of water activity on extractable polyphenols and some physical properties of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 687-696.
- Mariño, A., Núñez, M., Gámez, A.I. (2016). Alimentación saludable. Healthy nutrition. Centro de Rehabilitación Integral CEDESA, 1-13. <https://www.academia.edu/download/61769796/acm161e20200113-8604-1gwk9y7.pdf>
- Martínez-González, L., Fernández-Villa, T., Molina de la Torre, A.J., Ayán-Pérez, C., Bueno-Cavanillas, A., Capelo-Álvarez, R., Mateos-Campos, R., Martín-Sánchez, V. (2014). Prevalencia de trastornos de la conducta alimentaria en universitarios españoles y factores asociados: proyecto uniHcos. *Nutrición Hospitalaria*, 30, 927-934.
- Mercado-Mercado, G., Blancas-Benitez, F.J., Velderrain-Rodríguez, G.R., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G.A., Alvarez-Parrilla, E., Sáyago-Ayerdi, S.G. (2015). Bioaccessibility of polyphenols released and associated to dietary fibre in calyces and decoction residues of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Journal of Functional Foods*, 18, 171-181.
- Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., Cuevas-Rodríguez, E.O., Sánchez-Magaña, L.M., Rochín-Medina, J.J., Reyes-Moreno, C. (2017). Bebida funcional con potencial antidiabético y antihipertensivo elaborada con maíz azul y frijol negro bioprocesados. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40, 451-459.
- Moreno-Valdespino, C.A., Luna-Vital, D., Camacho-Ruiz, R.M., Mojica, L. (2020). Bioactive proteins and phytochemicals from legumes: Mechanisms of action preventing obesity and type-2 diabetes. *Food Research International*, 130, 108905.
- Navarro-Cruz, A.R., Vera-López, O., Munguía-Villeda, P., Sosa-Sánchez, R.Á., Lazcano-Hernández, M., Ochoa-Velasco, C., Hernández-Carranza, P. (2017). Hábitos alimentarios en una población de jóvenes universitarios (18-25 años) de la ciudad de Puebla. *Revista Espanola de Nutricion Comunitaria*, 23, 31-37.
- Oviedo-Solís, C.I., Cornejo-Manzo, S., Murillo-Ortiz, B.O., Guzmán-Barrón, M.M., Ramírez-Emiliano, J. (2018). Los polifenoles de la fresa

- disminuyen el estrés oxidativo en enfermedades crónicas. *Gaceta Médica de México*, 154, 80–86.
- Ozidalga, E., Ozidalga, A., Ahuja, N. (2012). The Smartphone in Medicine: A Review of Current and Potential Use Among Physicians and Students. *Journal of Medical Internet Research*, 14, 128.
- Page, M.J., McKenzie, J.E., Bossuyt, P.M., Boutron, I., Hoffmann, T.C., Mulrow, C.D., ..., Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, 10, 1-11. doi: [10.1136/bmj.n71](https://doi.org/10.1136/bmj.n71)
- Pérez-Armendáriz, B., Cardoso-Ugarte, G.A. (2020). Traditional fermented beverages in Mexico: Biotechnological, nutritional, and functional approaches. *Food Research International*, 136, 109307.
- Pérez-Torres, I., Castrejón-Téllez, V., Soto, M.E., Rubio-Ruiz, M.E., Manzano-Pech, L., Guarner-Lans, V. (2021). Oxidative Stress, Plant Natural Antioxidants, and Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 1786.
- Pietiläinen, K.H., Kaprio, J., Borg, P., Plasqui, G., Yki-Järvinen, H., Kujala, U.M., Rose, R.J., Westerterp, K.R., Rissanen, A. (2008). Physical inactivity and obesity: A vicious circle. *HHS Public Access*, 16, 414.
- Ravasco, P., Ferreira, C., Camilo, M.E. (2011). Alimentação para a saúde: A relevância da intervenção dos médicos. *Acta Medica Portuguesa*, 24, 783-790.
- Sánchez-Gloria, J.L., Osorio-Alonso, H., Arellano-Buendía, A.S., Carbó, R., Hernández-Díazcouder, A., Guzmán-Martín, C.A., Rubio-Gayosso, I., Sánchez-Muñoz, F. (2020). Nutraceuticals in the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 4827.
- Santos-Díaz, M.S., Barba-De La Rosa, A.P., Héliès-Toussaint, C., Guéraud, F., Nègre-Salvayre, A. (2017). *Opuntia spp.*: Characterization and Benefits in Chronic Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 8634249.
- Sebastián-Domingo, J.J. (2017). Review of the role of probiotics in gastrointestinal diseases in adults. *Gastroenterología y Hepatología*, 40, 417-429.
- Shamah-Levy, T., Romero-Martínez, M., Barrientos-Gutiérrez, T., Cuevas-Nasu, L., Bautista-Arredondo, S., Colchero, M.A., Gaona-Pineda, E.B., Lazcano-Ponce, E., Martínez-Barnetche, J., Alpuche-Arana, C., Rivera-Dommarco, J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020 sobre Covid-19. (2021). Resultados nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública. [220804_Ensa21_digital_4ago.pdf \(insp.mx\)](https://www.insp.mx/220804_Ensa21_digital_4ago.pdf)
- Suastegui-Baylón, L., Salazar, R., Maldonado-Astudillo, Y.I., Ramírez-Sucre, M.O., Arámbula-Villa, G., Flores-Casamayor, V., Jiménez-Hernández, J. (2021). Physical, Chemical and Rheological Characterization of Tuber and Starch from *Ceiba aesculifolia* subsp. *parvifolia*. *Molecules*, 26, 2097.
- Usydus, Z., Szlinder-Richert, J. (2012). Functional properties of fish and fish products: A review. *International journal of food properties*, 15, 823-846.
- Uuh-Narvaez, J.J., Segura-Campos, M.R. (2021). Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*): A food with functional properties aimed to type 2 diabetes prevention and management. *Journal of Food Science*, 86, 4775-4798.
- Valerino-Perea, S., Lara-Castor, L., Armstrong, M.E.G., Papadaki, A. (2019). Definition of the traditional Mexican diet and its role in health: a systematic review. *Nutrients*, 11, 2803.
- Vidal, A.R., Zaucedo-Zuñiga, A.L., Ramos-García, M. L. (2018). Propiedades nutrimentales del camote (*Ipomoea batatas* L.) y sus beneficios en la salud humana. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 19(2).
- Villa-Rivera, M.G., Ochoa-Alejo, N. (2020). Chili Pepper Carotenoids: Nutraceutical Properties and Mechanisms of Action. *Molecules*, 25, 5573.
- Wang, C.Z., Mehendale, S.R., Yuan, C.S. (2007). Commonly used antioxidant botanicals: active constituents and their potential role in cardiovascular illness. *The American journal of Chinese medicine*, 35, 543-558.
- Yaghoubzadeh, Z., Ghadikolaii, F.P., Kaboosi, H., Safari, R., Fattahi, E. (2020). Antioxidant activity and anticancer effect of bioactive peptides from rainbow trout (*Oncorhynchus*

mykiss) skin hydrolysate. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 26, 625-632.

Yanowsky-Escatell, F.G., Andrade-Sierra, J., Pazarín-Villaseñor, L., Santana-Arciniega, C., Torres-Vázquez, E.J., Chávez-Iñiguez, J.S., Zambrano-Velarde, M.Á., Preciado-Figueroa, F.M. (2020). The role of dietary antioxidants on oxidative stress in diabetic nephropathy. Iranian Journal of Kidney Diseases, 14, 81-94.

Zepeda-Hernández, A., Garcia-Amezquita, L.E., Requena, T., García-Cayuela, T. (2021). Probiotics, prebiotics, and synbiotics added to dairy products: Uses and applications to manage type 2 diabetes. Food Research International. 142, 110208.



Tlamati Sabiduría

Estandarización de una técnica básica para la síntesis de liposomas y encapsulamiento de proteínas recombinantes

Héctor Javier Lasso-Ávila¹
Jonás Lomberg-García¹
Ruth A. Lezama-Palacios²
Irene Castillo-Álvarez³
Miguel Ángel Mendoza-Catalán¹
Guillermo Jesús Balboa-Bueno¹
Luis Fernando Carbajal-Romero¹
Carlos Ortuño-Pineda^{1*}

¹Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Lázaro Cárdenas, s/n Ciudad Universitaria, 39070. Chilpancingo, Guerrero, México.

²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Manuel Carpio s/n, Col. Plutarco Elías Calles, Delegación Miguel Hidalgo, 11350, Ciudad de México, México.

³Departamento de Física, Centro de Investigación de Estudios Avanzado. Instituto Politécnico Nacional. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, Col. San Pedro Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero, 07360 Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia
ortunoc@outlook.com

Resumen

Los liposomas están compuestos por fosfolípidos que se auto-ensamblan en bicapas formando un interior acuoso donde se pueden encapsular fármacos que pueden dirigirse a tejidos específicos a través de estrategias de orientación activa o pasiva. El uso de liposomas es una propuesta para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, entre ellos el cáncer de pulmón. Sin embargo, poco se ha estudiado al respecto,

Información del Artículo

Cómo citar el artículo:

Lasso-Avila H.J., Lomberg-García J., Lezama-Palacios R.A. Castillo-Álvarez I., Mendoza-Catalán M.A., Balboa-Bueno G. J., Carbajal-Romero L.F., Ortuño-Pineda C. (2023). Estandarización de una técnica básica para la síntesis de liposomas y encapsulamiento de proteínas recombinantes. *Tlamati Sabiduría*, 15, 140-110.

Editores Invitados: Dr. Carlos Ortuño-Pineda; Dra. Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta

Recibido en la versión aceptada por los editores invitados: 19 de marzo 2023; Publicado: 26 de septiembre de 2023



debido a la carencia de blancos terapéuticos adecuados. Estudios recientes han revelado que la falta de actividad del factor transcripcional REST está relacionado con la adquisición del fenotipo neuroendocrino y la conversión oncogénica en cáncer de pulmón, por lo que puede ser propuesto como blanco terapéutico experimental. El objetivo de este trabajo fue estandarizar un método de purificación de lecitina, generación de liposomas y encapsulamiento de proteínas. Para ello se purificó lecitina de huevo utilizando una mezcla de éter:acetona (1:1) y lavados con etanol frío. La formación de las películas lipídicas se realizó por evaporación en frío en cloroformo:metanol (2:1). Finalmente, la formación de liposomas y encapsulamiento de proteínas se llevaron a cabo por resuspensión en buffer Tris (10 mM). Se obtuvo una mezcla de liposomas de alrededor de 0.22 μm , los cuales fueron teñidos con azul de metileno y visualizados a 100X. Las proteínas encapsuladas fueron analizadas por desnaturalización y visualización por electroforesis en gel de poliacrilamida teñido con nitrato de plata, obteniendo un rendimiento de 60%. En su conjunto, los resultados muestran que el método de generación de liposomas y encapsulamiento de proteínas estandarizado en este trabajo es sencillo y se requiere de mínima infraestructura.

Palabras clave: Liposoma, REST, Cáncer, Lecitina, Pulmón.

Abstract

Liposomes are composed of phospholipids that self-assemble in bilayers forming an aqueous interior where drugs that can target specific tissues can be encapsulated through active or passive orientation strategies. The use of liposomes is a proposal for the treatment of different types of cancer, including lung cancer. However, little has been studied in this regard, due to the lack of suitable therapeutic targets. Recent studies have revealed that the lack of activity of the transcriptional factor REST is related to the acquisition of the neuroendocrine phenotype and oncogenic conversion in lung cancer, so it can be proposed as an experimental therapeutic target. Recent studies have revealed that the lack of activity of the transcriptional factor REST is related to the acquisition of the neuroendocrine phenotype and oncogenic conversion in lung cancer, so it can be proposed as an experimental therapeutic target. The objective of this work was to standardize a method of lecithin purification, liposome generation and protein encapsulation. To do this, egg lecithin was purified using a mixture of ether:acetone (1:1) and washed with cold ethanol. The formation of the lipid films was carried out by cold evaporation in chloroform:methanol (2:1). Finally, the formation of liposomes and encapsulation of proteins were carried out by re-suspension in Tris buffer (10 mM). A mixture of liposomes of about 0.22 μm was obtained, which were dyed with methylene blue and visualized at 100X. The encapsulated proteins were analyzed by denaturation and visualization by electrophoresis in polyacrylamide gel dyed with silver nitrate, obtaining a yield of 60%. As a whole, the results show that the method of generating liposomes and encapsulating proteins standardized in this work is simple and easy to perform.

Keywords: Liposome, REST, Cancer, Lecithin, Lung.

Introducción

El prefijo 'nano' se refiere a un prefijo griego que significa y representa una mil millonésima parte de un metro (10^{-9}m). La nanotecnología, es una de las tecnologías más prometedoras del siglo

XXI y se refiere a la manipulación de la materia que permiten controlar la forma, el tamaño y las propiedades de la materia a dicha escala con el propósito de usarla en múltiples aplicaciones para la producción de nuevas nanoestructuras,

nanodispositivos y nanosistemas con tamaños de 1 a 100 nm conocidas como nanopartículas (Taniguchi *et al.*, 1974; Martin, 2006; Bayda *et al.*, 2019; Contera *et al.*, 2020). Dentro de estas nanopartículas existen diversas alternativas como nanotubos de carbón, dendrímeros, nanopartículas metálicas de oro y plata, nanocristales de puntos cuánticos, nanopartículas poliméricas, micelas poliméricas y liposomas (Borm *et al.*, 2006; De Jong *et al.*, 2008; Bhatia, 2016). Debido a estas características, las nanopartículas son candidatos adecuados para diversas aplicaciones comerciales y domésticas, que incluyen catálisis, imágenes, aplicaciones médicas, investigación basada en energía y aplicaciones ambientales (Malam *et al.*, 2009; Khan, 2019; He *et al.*, 2019; Ijaz *et al.*, 2020).

Los liposomas son vesículas con un diámetro inferior a 100 nm compuestas por bicapas lipídicas muy similares en composición y estructura a las membranas biológicas. En el laboratorio, estos pueden ser preparados tras la rehidratación de películas lipídicas, permitiendo encapsular fármacos, proteínas y/o agentes quimioterapéuticos en general, sirviendo como nanoplataformas para dirigir dichas moléculas a órganos blanco específicos (Colletier *et al.*, 2002). El uso de técnicas de encapsulación de fármacos permite mejorar la solubilidad y estabilidad de estos, así como prolongar su vida media en el plasma sanguíneo, logrando minimizar los efectos adversos. Estas nanoplataformas han sido utilizadas para la administración de fármacos como Diclofenaco Sódico (Navarro *et al.*, 2008), Ibuprofeno, Ácido Acetilsalicílico (García-Couce, 2014) e inclusive Doxorubicina, utilizado principalmente como tratamiento del cáncer, la cual presenta una toxicidad a nivel cardiaco, que se ve disminuida al ser encapsulada en liposomas. Este sistema de acoplamiento ha sido aprobado por la FDA como tratamiento (Fortina, 2007). Sin embargo, no se han reportado antecedentes de encapsulación de proteínas que sean blancos terapéuticos para diversas enfermedades, es por ello que en el presente trabajo se propone la estandarización de una técnica para la generación de liposomas y el encapsulamiento de proteínas de interés terapéutico.

A diferencia de países como Argentina y Brasil, en México aún no existe un plan nacional sobre la nanotecnología, los grupos involucrados en el desarrollo de esta tecnología trabajan de manera aislada. Sin embargo, se ha creado una red nacional de investigadores, lo que afecta el financiamiento de esta área. No obstante, en 2006 el Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Nacional (CONACYT) autorizó la creación de dos laboratorios nacionales (uno en Chihuahua, el CIMAV3 y otro en San Luis Potosí, el IPCyT4) con un presupuesto de 2 millones de dólares cada uno, y estableció proyectos en áreas estratégicas a través de financiación asignada a cinco instituciones por un importe de 10,000 dólares cada uno. Además, en noviembre de 2012 en la Ciudad de México se firmaron las directrices sobre la regulación de las nanotecnologías para fomentar competitividad y proteger el medio ambiente, el ser humano la salud y la seguridad de los consumidores (Delgado-Ramos, 2014).

Materiales y métodos

Obtención de REST recombinante (rREST)

La cepa *E. coli* BL21 transformada con el constructo pET28a-DBD8 que expresa rREST fue inoculada en 3 mL de medio SOB suplementado con IPTG (1mM) y Kanamicina (75 ng/μL) e incubadas durante 2 horas a 37 °C y 200 rpm. Posteriormente, los tubos fueron centrifugados a 6,000 rpm durante 5 minutos, recuperando el *pellet* únicamente, este fue lavado dos veces con PBS (pH 7.0). El *pellet* fue tratado con 100 μL de *buffer* B (Anexo 1) y se realizaron 3 ciclos de congelación/descongelación a -20 °C y temperatura ambiente. Finalmente, éste fue centrifugado a 15,000 rpm durante 15 minutos, separando los restos membranales y el sobrenadante para su posterior análisis mediante SDS-PAGE (12 %).

Ensayo de Cross-Linking

Se utilizó formaldehído (1%) como agente entrecruzador. Se tomaron dos muestras de 5 μL de las fracciones dializadas, una de estas fue tratada con formaldehído e incubada en hielo durante 30 minutos. Posteriormente ambas muestras fueron sometidas a desnaturalización

por calor durante ocho minutos, para su análisis mediante SDS-PAGE (12%).

Purificación y renaturalización de rREST expresada en E. coli BL21

La purificación de rREST fue realizada por medio del método modificado de dos pasos de desnaturalización y uno de re-plegamiento (Yang *et al.*, 2011). Las células fueron centrifugadas a 6,000 rpm durante 5 minutos y posteriormente lisadas en buffer B a temperatura ambiente durante 60 minutos, el lisado fue centrifugado a 15,000 rpm a 4 °C durante 10 minutos. El sobrenadante del lisado fue incubado con 2 ml de resina agarosa Ni-NTA (Qiagen, Germany) previamente equilibrada con buffer B, el complejo Ni-NTA-6His rREST fue eluido 8 veces en gradiente de pH y dializado en buffer de con gradiente de urea (4 M de urea 2 horas, 2 M de urea 2 horas, 1 M de urea 1 hora y 0 M de urea diálisis toda la noche), posteriormente las eluciones seleccionadas fueron nuevamente desnaturalizadas con buffer B y finalmente replegadas por diálisis fraccionadas con 40 mM Tris, 150 mM NaCl, 1 mM ZnCl₂, glicerol 20%, 10 mM β-mercaptoethanol, pH 7.3, bajando la concentración de urea, 5 M, 3 M, 1 M por 2 horas cada uno y 0 M durante toda la noche.

Extracción de lecitina de huevo

La lecitina fue extraída a partir de la yema del huevo, para ello, la yema fue tratada con 20 mL de éter etílico y un volumen de acetona igual al del éter. La mezcla fue filtrada en papel filtro, recuperando la fase retenida por el papel, esta fase fue lavada dos veces con 25 mL de alcohol frío, filtrando la mezcla y recuperando la fase acuosa que contiene lecitina de manera soluble. La lecitina recuperada fue colocada en un horno a 50°C para la evaporación total del solvente.

Generación de liposomas y encapsulamiento de rREST

Para la formación del *film* lipídico se pesaron 0.09 g de lecitina, que fueron resuspendidos en 10 mL de una mezcla de cloroformo/metanol (2:1) en una concentración final de 0.017 μM. Posteriormente, se realizaron alícuotas en

volúmenes de 100 μL, dejando evaporar dos veces a temperatura ambiente y una tercera vez a -20°C. El *film* lipídico formado por la lecitina fue resuspendido en 150 μL de *buffer* con proteína disuelta. Esta preparación fue sometida a tres ciclos en *vortex* con intervalos de un minuto de agitación por un minuto de descanso en hielo. Posteriormente se colocó 10 μL de las muestras en un portaobjetos y fue teñida con 1 μL de azul de metileno, las preparaciones fueron observadas en un microscopio con los objetivos de 40X y 100X.

Monitoreo de liposomas

Los liposomas fueron filtrados cargando 100 μL de la preparación en un tubo capilar (Corning), colocando un filtro con un poro de 0.22 μm de diámetro en un extremo del tubo capilar (Millipore, número de catálogo GVWP 013 00), y debajo de esto se colocaron toallas de papel absorbente. Los filtros fueron recuperados y lavados con 15 μL de agua MQ. Su análisis se realizó en SDS-PAGE (12%) teñido con nitrato de plata.

Resultados

Análisis in silico de la hidrofobicidad, expresión y purificación de REST recombinante

Primero realizamos un análisis *in silico* con el software ProtParam de la secuencia aminoacídica de la proteína para conocer las características bioquímicas de la misma, principalmente los patrones de hidrofobicidad. Los resultados obtenidos mostraron que rREST está compuesta por 308 aminoácidos (100%), conteniendo en su mayoría Lisina (12%), el cual tiene una naturaleza hidrofílica y posee una carga positiva. Sin embargo, el 25% total de los aminoácidos que componen a rREST son de naturaleza hidrofóbica. Entre los aminoácidos hidrofóbicos con mayor presencia se encuentran la Valina (5.5%), Alanina (4.9%) y Prolina (4.9%), localizados sobre toda la estructura polipeptídica (Fig. 1A). Esto es importante ya que los métodos de purificación y renaturalización de una proteína dependen de las características de su secuencia de aminoácidos, además, del correcto plegamiento

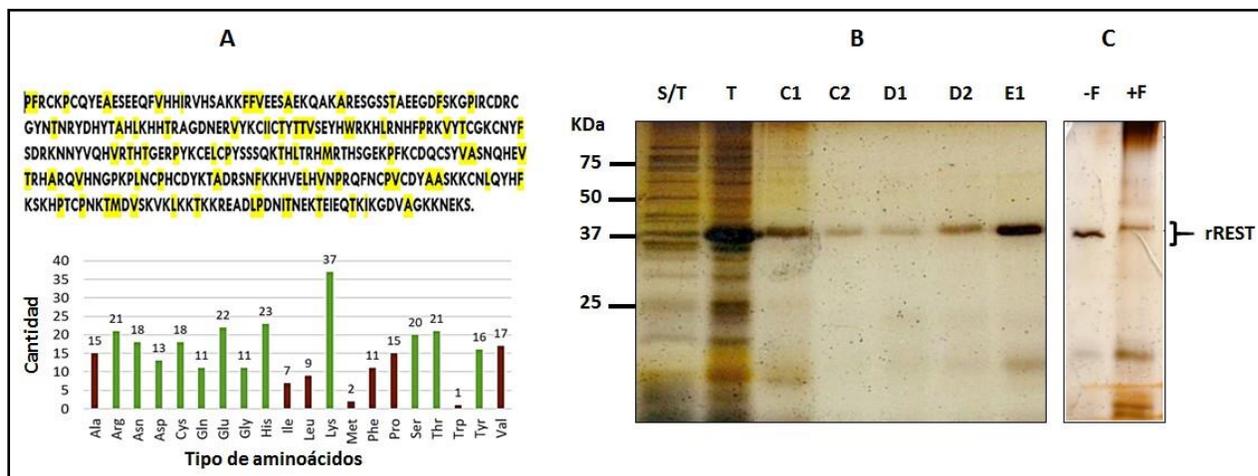


Figura 1. Composición bioquímica y purificación del DBD recombinante de REST. A) Secuencia de aminoácidos que conforman a rREST, se resaltan en color amarillo los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica (arriba). Composición aminoacídica con relación a la cantidad de estos presentes en rREST. En color café se visualizan los aminoácidos hidrofóbicos que representan el 25% y en color verde, los aminoácidos hidrofílicos que representan el 75% restante (abajo); B) Monitoreo de las fracciones representativas del proceso de purificación de rREST. S/T: Lisado total de *E. coli* sin transformar, T: lisado total de *E. coli* transformada, C-E: lavados con gradientes de pH, E1 fracción correspondiente a la proteína eluida de la resina de purificación. c) Monitoreo del ensayo de Cross-Linking con 1% de formaldehído.

depende su solubilidad en el buffer de encapsulamiento en los liposomas.

Para la expresión de rREST las cepas de *E. coli* BL21 transformadas con el constructo pET28a-DBD8 fueron inducidas con IPTG (1mM) e incubadas 2 horas a 37 °C. Las colonias fueron lisadas y separadas en fracciones citoplasmáticas y fracciones membranales. El monitoreo de la expresión y purificación de rREST se muestra en la Figura 1B. Para descartar la presencia de agregados macromoleculares de rREST debidos a un mal plegamiento de la proteína durante el proceso de renaturalización, se realizó un entrecruzamiento con 1% de formaldehído en condiciones nativas. Aunque se observó dimerización de la proteína purificada, la mayor proporción de la proteína se encontró en forma de monómeros (Fig. 1).

Formación de liposomas y encapsulamiento de REST

Una vez obtenida la proteína recombinante se purificó la lecitina de huevo, la cual fue

rehidratada con 150 μ L de la solución de resuspensión conteniendo una concentración de 20 μ g/ μ L de REST recombinante. La formación de liposomas se observó a 100X, en la cual se identificaron poblaciones de liposomas unilamelares de diferentes tamaños, estos se clasificaron en pequeños (SUV) y grandes (LUV), con un rango de diámetro de 0.22-2.0 μ m, obteniendo un promedio de 126 por campo. La preparación fue cargada en un tubo capilar, el cual contenía un filtro de 0.22 μ m en un extremo. La filtración se realizó por gravedad y los liposomas fueron recuperados del filtro usando agua MQ, obteniendo un promedio de 77 liposomas por campo. Recuperando aproximadamente el 50 % de los liposomas formados. La eficacia de encapsulación de la proteína en los liposomas mostró un rendimiento del 58%, lo cual representa un total de 11.6 μ g de una concentración inicial de 20 μ g (Fig. 2).

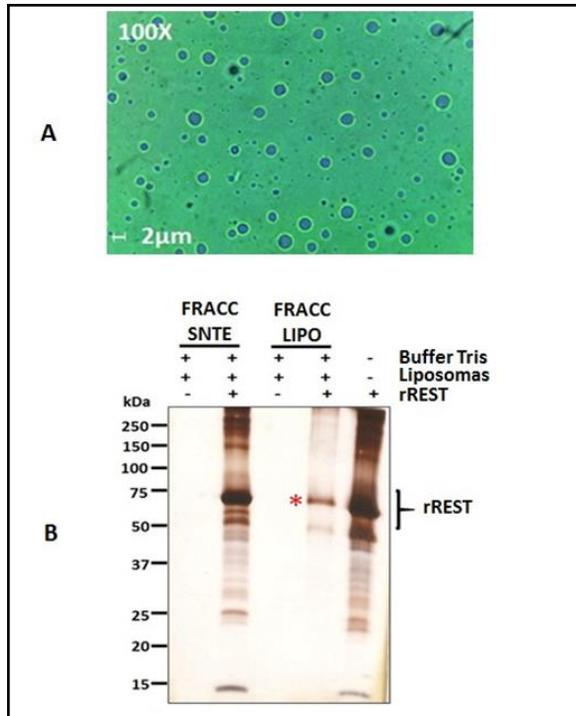


Figura 2. Encapsulamiento de rREST en los liposomas y monitoreo de la proteína encapsulada. A) Vista al microscopio de las preparaciones de liposomas. B) Monitoreo de las proteínas encapsuladas en los liposomas. Se muestra el monitoreo del sobrenadante y la fracción liposomal. La banda marcada con asterisco corresponde a la proteína encapsulada y recuperada por desnaturalización de los liposomas.

Discusión

La presencia de rREST en las fracciones membranales de las células transformadas, indica la formación de Cuerpos de Inclusión (CI), que se forman cuando la proteína recombinante es expresada en mayor concentración y ésta no puede ser tolerada como proteína soluble en el citoplasma celular. La proteína rREST forma CI al ser expresada en *E. coli* BL21, debido a que esta proteína es extremadamente insoluble. Los resultados obtenidos concuerdan con los datos obtenidos por Yang y colaboradores, quienes expresaron REST en *E. coli*. Estos CI fueron anteriormente descritos por Rogl y colaboradores y que la formación de CI se da al expresar algunas proteínas recombinantes extremadamente insolubles o con una gran diferencia filogenética

entre los genes expresados y la célula hospedera *E. coli* (Rogl *et al.*, 1998). Aunque los CI, a menudo han sido considerados indeseables, su formación puede ser una ventaja ya que su aislamiento de los homogenados es conveniente para la purificación.

El método de rehidratación permite la encapsulación eficiente de proteínas sin que estas se desnaturalicen. Por lo tanto, la rehidratación de las películas lipídicas da lugar, en primera instancia a la formación de vesículas multilaminares no homogéneas, sin embargo, la sustitución de métodos como la sonicación y la extrusión por aplicación de los ciclos en *vortex* es adecuado para la formación de liposomas tipos *small unilamellar vesicle* (SUV) y *large unilamellar vesicle* (LUV) como se muestra en los resultados obtenidos. Por otro lado, el método de filtración por capilar propuesto en este trabajo permite la recuperación de los liposomas de volúmenes extremadamente pequeños. Las muestras sometidas a esta técnica se observaron al microscopio, donde se encontró una disminución en las poblaciones de liposomas, debido a que el tamaño del poro del filtro utilizado es de un diámetro de 0.22 μm , lo cual sugiere que la mayoría de la población de liposomas es del tipo SUV con un tamaño de diámetro promedio de 0.22 μm .

Conclusión

La lecitina de huevo utilizada en este trabajo como materia prima para la generación de liposomas permite una alta eficiencia en la encapsulación de proteínas, pues permite la formación de vesículas de diversos tipos y tamaños. Además, esta materia prima tiene un impacto económico de bajo costo en comparación con otros sistemas disponibles en el mercado.

Referencias

- Bhatia, S. (2016). Nanoparticles Types, Classification, Characterization, Fabrication Methods and Drug Delivery Applications. In Bathia, S. (Ed). Natural Polymer Drug Delivery Systems. Springer, 33-93.
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., Rizzolio, F. (2019). The History of Nanoscience

- and Nanotechnology: From Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules* 25, 112.
- Borm, P.J., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Stone, V., Kreyling, W., Lademann, J., Krutmann, J., Warheit, D., Oberdorster, E. (2006). The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology*, 3, 11.
- Contera, S., Bernardino de la Serna, J., Tetley, T.D. (2020). Biotechnology, nanotechnology and medicine. *Emerging Topics in Life Sciences*, 4, 551-554.
- Colletier, J.P., Chaize, B., Winterhalter, M., Fournier, D. (2002). Protein encapsulation in liposomes: efficiency depends on interactions between protein and phospholipid bilayer. *BMC Biotechnology*, May 10;2:9.
doi: [10.1186/1472-6750-2-9](https://doi.org/10.1186/1472-6750-2-9).
- Delgado-Ramos, G.C. (2014). Nanotechnology in Mexico: global trends and national implications for policy and regulatory issues. *Technology in Society*, 37, 4-15.
- De Jong, W.H., Borm, P.J. (2008). Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *International Journal of Nanomedicine*, 3, 133-149.
- Fortina, P., Kricka, L.J., Graves, D.J., Park, J., Hyslop, T., Tam, F., Halas, N., Surrey, S., Waldman, S.A. (2007). Applications of nanoparticles to diagnostics and therapeutics in colorectal cancer. *Trends in Biotechnology*, 25, 145-152.
- García-Couce, J., Bada-Rivero, N., López-Hernández, O.D., Nogueira-Mendoza, A., Caracciolo, P.C., Abraham, G.A., Ramón-Hernández, J.Á., Peniche-Covas, C. (2014). Recubrimiento de microesferas de quitosana-ibuprofeno con un complejo interpolimérico pH dependiente. *Revista Cubana de Farmacia*, 48, 646-657.
- He, X., Deng, H., Hwang, H.M. (2019). The current application of nanotechnology in food and agriculture. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27, 1-21.
- Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., Bukhari, A. (2020). Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 13, 223-245.
- Khan, I., Saeed, K., Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12, 908-931.
- Malam, Y., Loizidou, M., Seifalian, A.M. (2009). Liposomes and nanoparticles: nanosized vehicles for drug delivery in cancer. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30, 592-599.
- Martin, C.R. (2006). Welcome to nanomedicine. *Nanomedicine*, 1, 5-5.
- Navarro, G., Cabral, P., Malanga, A., Sabio, E. (2008). Diseño de liposomas para el transporte de diclofenac sódico. *Revista Colombiana de Ciencia y Química Farmaceutica*, 37, 212-223.
- Rogl, H., Kosemund, K., Ku, W., Collinson, I.Y. (1998). Refolding of Escherichia coli produced membrane protein inclusion bodies immobilised by nickel chelating chromatography. *FBS Letters*, 432, 21-26.
- Taniguchi, N. (1974). On the basic concept of nanotechnology. *Proceeding of the International Conference on Production Engineering*, Tokyo, 18-23.CPE.
- Yang, Z., Zhang, L., Zhang, Y., Zhang, T., Feng, Y., Lu, X., Lan, W., Wang, J., Wu, H., Cao, C., Wang, X. (2011). Highly efficient production of soluble proteins from insoluble inclusion bodies by a Two-Step-Denaturing and refolding method. *Plos One*, 6, 1-8.