



La Revista

# FRONTERA

Biotechnológica

Abre sus puertas a la excelencia académica  
con un especial dedicado a las  
**MEMORIAS**

**XXVI** Jornadas  
Académicas del  
Doctorado en Ciencias  
en Biotecnología-IPN

18 al 20 de octubre 2023

**CDMX**



## INDICE MEMORIAS

TITULO	AUTORES	PÁGINA
OPTIMIZACIÓN DE LA DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS $\beta$ -BLOQUEADORES EN AGUA MEDIANTE PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA: FOTÓLISIS Y FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA SOLAR Y UV.	Irma Carolina Torrecillas Rodríguez, José B. Proal Nájera	31
MEJORA DEL DESEMPEÑO DE UN HUMEDAL EN LA REMOCIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES USANDO LA DINÁMICA DE FLUIDOS COMPUTACIONAL (CFD)	Alan Garduño Montero, Celestino Odin Rodríguez Nava	33
DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS EN DIVERSAS MATRICES DE ORIGEN MARINO EN LA LAGUNA DE LA PAZ BAJA CALIFORNIA SUR	Daniel Santos Ubaldo, Raúl Jacobo Delgado Macuil, Valentín López Gayou, Mauricio Muñoz Ochoa.	35
DISEÑO DE UN DETECTOR C4D PARA LA CUANTIFICACIÓN DE METFORMINA EN AGUA DURANTE SU DEGRADACIÓN POR PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA	Jaime Manuel Castañeda Sánchez, Ignacio Villanueva Fierro	37
ESTUDIO DE LOS FACTORES DE MODULACIÓN DEL METABOLISMO DE <i>Bacopa procumbens</i> EN LA ACUMULACIÓN Y COMPOSICIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y REDUCTORA DE NANOMATERIALES.	Elizabeth Vargas Anaya, Raúl Jacobo Delgado Macuil, Flor de Fátima Rosas Cárdenas, María del Carmen Avelino Flores, Alejandro Zamilpa Álvarez, Valentín López Gayou Valentín	39
ESTUDIO ÓMICO DE MOLÉCULAS ASOCIADAS A QUÓRUM SENSING EN UN CONSORCIO BACTERIANO CON POTENCIAL PARA LA DEGRADACIÓN DE MICROPARTÍCULAS DE PET	Raquel Rodríguez Gutiérrez, Diana Verónica Cortés Espinosa	41
DESARROLLO DE UN BIOSENSOR COLOIDAL PARA LA DETECCIÓN DE METALES PESADOS	Nina Torres Valencia, Valentín López Gayou, Manasés González Cortazar, Raúl Jacobo Delgado Macuil, Orlando Zaca Morán.	43
EVALUACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA PARED CELULAR PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL, EN CURVAS DE CRECIMIENTO DE GRAMÍNEA C4 Y FRECUENCIAS DE CORTE EN GRAMÍNEA C3	José Agustín Pacheco-Ortiz, Rigoberto Castro-Rivera, Francisco Roberto Quiroz-Figueroa, Gisela Aguilar Benítez, María Myrna Solís Oba, Valentín López-Gayou, Brenda Yanin Azcárraga-Salinas, Andres Castro Sierra	45
PRODUCCIÓN Y APLICACIÓN DE LOS BIOPOLÍMEROS PRODUCIDOS POR MICROORGANISMOS AUTÓCTONOS DE LA RESERVA DE LA BIOSFERA RÍA LAGARTOS (YUCATÁN, MÉXICO)	Eduardo Quitzé Vivanco Núñez, Blanca Estela Barragán Huerta	47
EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN SUSTENTABLE DE BIOCOMBUSTIBLES A PARTIR DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS Y LÍQUIDOS GENERADOS EN LA FABRICACIÓN DEL MEZCAL	Ma. del Refugio Hernández López, Blanca Estela Barragán Huerta, Iván Moreno Andrade, Juan Manuel Vígueras Cortés, Marco Antonio Garzón Zúñiga	49
CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, HISTOLÓGICA, FISIOLÓGICA Y QUÍMICA DE PLANTAS POLIPLÓIDES DE ARÁNDANO EN EL CONTEXTO DE CAMBIO CLIMÁTICO	Alejandra María Araujo Heraldez, Jesús Lucina Romero Romero	51



## TÍTULO

## AUTORES

## PÁGINA

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE EMPLEANDO BIOINDICADORES Y SENSORES EN LA CIUDAD DE DURANGO, MÉXICO	Sofía Lizeth De Casas Reyes, Isaías Chairez Hernández	53
IDENTIFICACIÓN DE ENZIMAS DEGRADADORAS DE PET Y SU EXPRESIÓN EN <i>Pseudomonas SP</i> (P1)	Ana Sofía, Fierros Peña, Ninfa M. Rosas-García	55
DIRECCIONAMIENTO DEL METABOLISMO DE <i>Leclercia adecarboxylata</i> HACIA LA SOBREPRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTES	David Israel Ríos Vázquez, Diana Verónica Cortés Espinosa	57
PRODUCCIÓN DE FITORREGULADORES A PARTIR DE ESTÉRILES BOVINOS Y PORCINOS MEDIANTE DIGESTIONES ANAEROBIAS	Andres Castro-Sierra, María Myrna Solís-Oba, Teodoro Espinosa-Solares, Eric Houbbron, Angélica Romero-Rodríguez, Ana Rosa Sánchez-Camarillo	59
CRECIMIENTO, CALIDAD Y RENDIMIENTO DEL TOMATE ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) BAJO DIFERENTES ESQUEMAS DE FERTILIZACIONES ORGÁNICO-MINERAL	Angélica Romero-Rodríguez, María Myrna Solís Oba, José Agustín Pacheco Ortíz, Javier Ruiz Romero	61
RESISTOMA Y FILOGENIA DE <i>Listeria monocytogenes</i> AISLADA DE ALIMENTOS DE REYNOSA, TAMAULIPAS	Gabriela Paulina Guel García, Ana Verónica Martínez Vázquez	63
EFFECTO PROTECTOR DE EXTRACTOS FENÓLICOS DE CÁSCARA DE NUEZ ( <i>Carya illinoensis</i> ) EN PLÁNTULAS DE FRIJOL COMÚN ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) SOMETIDAS A ESTRÉS SALINO	Iliana Ivette Lozano Montelongo, Norma Almaraz Abarca	65
EFFECTO DE LA APLICACIÓN FOLIAR DE UN FERTILIZANTE ORGANOMINERAL CON DIGESTATO SOBRE LA RIZOSFERA, EL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE <i>Lolium perenne</i> L.	Karim Hassam Montalvo Aguilar, Rigoberto Castro Rivera, Carlos Ligne Calderón Vázquez	67
CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLÓGICA, DIVERSIDAD GENÉTICA Y RESPUESTA AL ESTRÉS ABIÓTICO DE CINCO ESPECIES SILVESTRES DE FRIJOL DEL ESTADO DE DURANGO	Denisse Téllez Mazzocco, Yolanda Herrera Arrieta, Miguel M. Correa Ramírez, Marlon Rojas López y Kalina Bermúdez Torres	69
DINÁMICA DE EXPRESIÓN DE GENES IMPLICADOS EN LA REMODELACIÓN DE LA PARED CELULAR DEL FRUTO EN <i>Carica papaya</i>	Miguel Salvador-Adriano, Didiana Gálvez-López, Miguel Angel Reyes-López	71
FORMULACIONES A BASE DE <i>Bauveria bassiana</i> , <i>Isaria fumosorosea</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> PARA EL CONTROL DE <i>Trips SPP</i> EN ARÁNDANOS	Jesús Uriel Hernández Armenta, Cipriano García Gutiérrez	73
EVALUACIÓN DE TRES EXTRACTOS VEGETALES ( <i>Tagetes erecta</i> , <i>Ricinus communis</i> Y <i>Cosmo bipinnatus</i> ) COMO PLAGUICIDAS CONTRA LOS EFECTOS DE <i>Meloidogyne Sp.</i> EN <i>Solanum lycopersicum</i> USANDO ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL	Jeisel Delgado Flores, Raúl Jacobo Delgado Macuil, María Eugenia Jaramillo Flores	75



## TÍTULO

## AUTORES

## PÁGINA

CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS DE GENOMAS DE CEPAS DE <i>Bdellovibrio</i> Y SU APLICACIÓN EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE <i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> CAUSANTE DEL HLB EN <i>Citrus Latifolia Tanaka</i>	Cynthia Guadalupe Rodríguez Quibrera, Xianwu Guo Zhou, José Luis Hernández Mendoza	77
ANÁLISIS DE LA RESISTENCIA CUTICULAR DE GENOTIPOS DE PAPAYA ( <i>Carica papaya</i> L.) A <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Y <i>Colletotrichum truncatum</i> .	David Enrique Pérez-Leyva, Flor de Fátima Rosas-Cárdenas, María Elena Santos Cervantes	79
POTENCIAL BIOLÓGICO DE ACEITES ESENCIALES SOBRE <i>Dendroctonus</i> spp. Y LOS HONGOS ASOCIADOS AL PROCESO DE INFESTACIÓN DE <i>Pinus</i> spp.	Luis Mario Ayala-Guerrero, Aarón Mendieta-Moctezuma	81
ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE LA INTERACCIÓN ENTRE LA LEVADURA <i>Meyerozym aguiliermondii</i> LCBG-03 Y EL HONGO FILAMENTOSO <i>Penicillium digitatum</i> DURANTE EL FENÓMENO DE BIOCONTROL	Eliud de la Cruz García, Claudia Patricia Larralde Corona, José Alberto Narváez Zapata	83
ANÁLISIS VOLATILÓMICO, TRANSCRIPTÓMICO Y METABOLÓMICO DE LA INTERACCIÓN DE LA HORMIGA DE FUEGO ( <i>Solenopsis geminata</i> ) SOBRE PLANTAS DE CHILE MANZANO ( <i>Capsicum pubescens</i> ).	Wendy Abril Coyotl Pérez, Flor de Fátima Rosas Cárdenas, Nemesio Villa Ruano, Silvia Luna Suárez	85
FORMULACIÓN DE NANOEMULSIONES DE EXTRACTOS DE RESIDUOS FORESTALES PARA EL CONTROL DE FITOPATÓGENOS DEL CULTIVO DE MAÍZ	Teresa Guadalupe Vargas Mendieta, Blanca Estela Barragán Huerta, Paulina Gutiérrez Macías	87
ESTUDIO DE LOS COMPONENTES DE <i>Hamelia patens</i> SOBRE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> : UN ABORDAJE METABOLÓMICO Y PROTEÓMICO	Daniel Jafet Valle Ortiz, Fabiola Eloísa Jiménez Montejo, Martha Rosales Castro, María del Carmen Cruz López, Diana Verónica Cortés Espinosa, Aarón Mendieta Moctezuma	89
CONTROL BIOLÓGICO DE <i>Gloveria</i> spp. PACKARD 1872 ( <i>Lepidoptera: Lasiocampidae</i> ) EN BOSQUES DE LA UMAFOR 1008, DURANGO	Mayra Amezcua Rojas, María Berenice González Maldonado	91
NANOENCAPSULACIÓN DEL EXTRACTO DE <i>Hypericum perforatum</i> CON QUITOSANO PARA EL BIOCONTROL DE ENFERMEDADES FÚNGICAS EN EL CULTIVO DE NOPAL ( <i>Opuntia ficus-indica</i> L.)	Carolina Niño Martínez, Ma. de la Paz Salgado*, Gloria Dávila Ortiz	93
POTENCIAL DEL CULTIVO CELULAR <i>IN VITRO</i> PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS BIOACTIVOS DE AGAVE DURANGENSIS	Heberto Iván Salas Ayala, José Antonio Ávila Reyes	95
ANÁLISIS DEL MODELO DE INTERACCIÓN TRIPARTITA MAÍZ-B25-FV: ESTUDIO DE EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE QUITINASAS COMO MECANISMO DE DEFENSAS	Jesús Eduardo Cazares Álvarez, Ignacio Eduardo Maldonado Mendoza	97
DINÁMICA ESTRUCTURAL Y ACUMULATIVA DE CARBOHIDRATOS DE <i>Agave duranguensis</i> Y EVALUACIÓN DE SUS PROPIEDADES FUNCIONALES	Shailla Nayeli Pérez Salinas, Rene Torres Ricario, Yolanda Herrera Arrieta	99
APLICACIÓN DE TECNOLOGÍA ULTRASÓNICA PARA EL BLANQUEAMIENTO DE ACEITES VEGETALES COMESTIBLES	Alelhi del Carmen De Jesús Hernández, Héctor Ruiz Espinosa, Genaro Gustavo Amador Espejo, Raúl Jacobo Delgado Macuil	99



## TÍTULO

## AUTORES

## PÁGINA

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE APTÁMEROS DE DNA CAPACES DE RECONOCER TROFOZOÍTOS DE <i>Entamoeba histolytica</i>	Alondra Cisneros Sarabia, Laurence A. Marchat, Juan David Ospina Villa, María Esther Ramírez Moreno, Mónica Ascención De Nova, Ocampo, César Augusto Sandino Reyes López	101
EVALUACIÓN DE RESERVORIOS AMBIENTALES DE CEPAS <i>Escherichia coli</i> PRODUCTORA DE β-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN TAMAULIPAS	Mandujano-Hernández J. A., Cortés-Espinosa D., Martínez-Vázquez A. V.	103
DISEÑO Y OBTENCIÓN DE DERIVADOS SEMISINTÉTICOS CON ACTIVIDAD POTENCIAL ANTIPARASITARIA Y ANTIBACTERIANA.	Diana Victoria Navarrete Carriola, Michael P. Doyle, Gildardo Rivera	105
SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ESTRUCTURAS MICROMÉTRICAS PARA LA INACTIVACIÓN DE MICROORGANISMOS EN PRESENCIA DE ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS	Tania Libertad Alcázar Medina, Ana Adela Lemus Santana, José B. Proal Nájera	107
MICROENCAPSULADOS DE <i>Dictyota dichotoma</i> Y <i>Bacillus</i> DEL PROCESO DE MUDA DE <i>Callinectes arcuatus</i>	Jose Alonso, Medina-Parra, Genaro, Diarte-Plata, Ruth, Escamilla-Montes, Antonio Luna-González, Magnolia Montoya-Mejía, María Elena Santos-Cervantes.	109
RELACIÓN DE POLIFENOLES/PROTEÍNAS Y SU EFECTO SOBRE LA FUNCIONALIDAD DEL POLEN DE <i>Apis mellifera</i>	Nancy Nohemí Rodarte Rodríguez, José Antonio Ávila-Reyes.	111
ELABORACIÓN DE LIPOSOMAS TRANSPORTANDO MATERIA INSAPONIFICABLE E HIDROLIZADO DE PROTEÍNAS DE AMARANTO PARA EL TRATAMIENTO IN VITRO DE CÁNCER COLORRECTAL	Jorge Oswaldo Gutiérrez López, Gloria Dávila Ortiz, Erick Damián Castañeda Reyes	113
DISEÑO Y FABRICACIÓN DE MATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE POLÍMEROS Y MATERIALES ORGÁNICOS CON POSIBLE APLICACIÓN EN LA ENDODONCIA REGENERATIVA	Amairany Rodríguez Navarrete, Doris Atenea Cerecedo Mercado, Cesar Augusto Sandino Reyes López, Ivette Astrid Martínez Vieyra	115
ESTUDIO DEL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE CHÍA Y AMARANTO	Hector Atonal Sánchez, Silvia Luna Suárez	117
BIOINGENIERÍA DE LA LEPTINA HUMANA Y OPTIMIZACIÓN DE SU PROCESO DE PRODUCCIÓN COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA DE LA OBESIDAD Y COMORBILIDADES	Gabriel Ivan Ortega López, Víctor Eric López y López, Claudia Guadalupe Benítez Cardoza	119
GENOMIC AND ENZYMIC ANALYSIS OF MICROORGANISMS CAPABLE OF DEGRADING LOW-DEGRADING AND RECALCITRANT PLASTICS	Aminat Shokunbi, Ninfa María Rosas García	121
HIDROLIZADO DE CAMARONES INFECTADOS CON VIRUS DE LA MANCHA BLANCA (WSSV) ADICIONADO EN LA DIETA COMO INDUCTOR DE RESISTENCIA CONTRA ENFERMEDADES VIRALES EN CAMARÓN BLANCO ( <i>Penaeus vannamei</i> )	Nallely Michelle Panduro López, Píndaro Álvarez Ruiz	123



## TÍTULO

## AUTORES

## PÁGINA

HISTORIA DE VIDA DE LA POBLACIÓN DE TORTUGA NEGRA ( <i>Chelonia mydas agassizii</i> ) EN EL SANTUARIO DE PLAYA COLOLA, MICHOACÁN, MÉXICO.	Cutzi Bedolla-Ochoa, Miguel Ángel Reyes-López, Hervey Rodríguez-González	125
EVALUACIÓN DE MICROALGAS COMO ADITIVOS EN ALIMENTOS BALANCEADOS EN DIFERENTES GENOTIPOS DE CAMARÓN BLANCO <i>Litopenaeus vannamei</i>	Brisa Lizbeth Puente Padilla, Hervey Rodríguez González	127
PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE CAMARÓN CON GENOTIPOS ENZIMÁTICOS MEJORADOS.	Isabel Martínez Rocha, Juan Carlos Sainz Hernández	129

# MEMORIAS

## XXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología-IPN

## OPTIMIZACIÓN DE LA DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS $\beta$ -BLOQUEADORES EN AGUA MEDIANTE PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA: FOTÓLISIS Y FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA SOLAR Y UV.

Irma Carolina Torrecillas Rodríguez, José B. Proal Nájera\*,

Instituto Politécnico Nacional CIIDIR Durango, Academia de Físicoquímica, Sigma #119 Fracc. 20 de Noviembre II, 34220, Durango, Dgo., México. 618 134 1781. jproal@ipn.mx

Palabras clave: Contaminantes emergentes,  $\beta$ -bloqueadores, disruptor endócrino, fotocátalisis, fotólisis.

**Introducción.** Recientemente se ha detectado la presencia de contaminantes potencialmente peligrosos, denominados como emergentes. Debido a que dichos contaminantes son compuestos de distinto origen y naturaleza química, tienden a pasar inadvertidos, y como consecuencia, su presencia en el medio ambiente no se considera significativa en términos de concentración (Barceló y López, 2008). Sin embargo, esto no los exime de provocar un gran impacto ecológico, así como efectos adversos sobre la salud humana (Gil et al., 2012). Dichos contaminantes se han detectado en fuentes de abastecimiento de agua, aguas subterráneas e incluso en agua potable.

Dentro del amplio grupo de contaminantes emergentes se encuentran el metoprolol, propranolol y bisoprolol, fármacos pertenecientes a la familia de los  $\beta$ -Bloqueadores, los cuales han sido señalados como disruptores endócrinos en algunos organismos acuáticos (Barceló y López, 2008).

Asimismo, los métodos actuales de tratamiento de agua residual no están diseñados para detectar o tratar estos contaminantes, por lo que este estudio plantea la degradación de metoprolol, propranolol y bisoprolol en medio acuoso mediante procesos de oxidación avanzada utilizando radiación proveniente de la luz solar y lámparas UV.

### Metodología.

1. Para el estudio de la degradación de metoprolol, propranolol y bisoprolol en solución acuosa, mediante fotólisis, fotólisis/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fotocátalisis y fotocátalisis/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solar heterogénea, se utilizará un reactor de placa plana (1 m<sup>2</sup> o 1/10 m<sup>2</sup>), ajustando un óptimo flujo laminar (Re<1000) e inclinación (respecto a la latitud de la ciudad de Durango, Dgo., cercana a los 24°) e impregnando el soporte (vidrio esmerilado), en su caso, con un semiconductor de TiO<sub>2</sub> comercial (Fermont, Sigma, Fischer o Degussa P-25), realizando experimentos de 90 min de duración c/u, y tomando muestras cada 5 min de reacción para determinar la variable de respuesta (DQO, Absorbancia, etc.).

2. Para el estudio de la degradación de metoprolol, propranolol y bisoprolol en solución acuosa, mediante fotólisis, fotólisis/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fotocátalisis y fotocátalisis/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> heterogénea con radiación UV, se utilizará un reactor Ambientcare, que utiliza un semiconductor comercial de TiO<sub>2</sub>, bajo intensa radiación de una lámpara UV, que emite luz en la región UV-C, con una longitud de onda  $\lambda = 254$  nm), realizando experimentos de 120 min de duración c/u, y tomando muestras cada 5 min de reacción para determinar la variable de respuesta (DQO, Absorbancia, etc.).

3. Para la determinación de los parámetros fisicoquímicos fundamentales de la reacción cinética (constante de velocidad, vida media y velocidad de la reacción de degradación), se utilizará el método de cálculo cinético formal para procesos con radiación solar y UV.

4. Se determinará el modelo estadístico basado en un diseño factorial con mediciones repetidas, y se desarrollará la propuesta de un ANOVA para el óptimo proceso de degradación de sustancias  $\beta$ -bloqueadores, aplicando un estudio de Gauss-Markov.

### Resultados esperados.

- Determinar los parámetros óptimos (pH y dosis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) para la degradación de metoprolol, propranolol y bisoprolol en solución acuosa por fotólisis y fotocátalisis heterogénea solar y UV.
- Determinar cuál es el fotocatalizador semiconductor con la actividad catalítica más favorable para la degradación de  $\beta$ -bloqueadores en solución acuosa.
- Determinar la ecotoxicidad de los subproductos de degradación de metoprolol, propranolol y bisoprolol en solución acuosa por fotólisis y fotocátalisis heterogénea solar y UV.
- Obtener la cinética química de degradación para cada uno de los fármacos degradados: metoprolol, propranolol y bisoprolol.
- Diseñar un modelo teórico de degradación de contaminantes emergentes en solución acuosa que funcione en ciclo continuo solar-UV, las 24 horas del día para evaluar su aplicabilidad en el tratamiento de aguas.

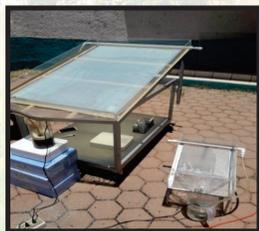


Figura 1. Reactores de placa plana para el proceso fotocatalítico de 1 m<sup>2</sup> y 1/10 m<sup>2</sup>.

### Conclusiones y perspectivas.

Actualmente, los contaminantes emergentes aun son desconocidos para gran parte de la población. Sin embargo, su impacto ambiental negativo aumenta cada día. Fármacos  $\beta$ -bloqueadores antihipertensivos como el metoprolol, propranolol y bisoprolol son ampliamente consumidos en todo el mundo, por lo que se encuentran en cantidades de mg L<sup>-1</sup>, tanto en cuerpos de agua superficial como en PTAR, por lo que es imperativa la aplicación de métodos de tratamiento de aguas residuales que logren eliminarlos completamente, tal como la fotólisis y fotocátalisis heterogénea solar y UV, que están dentro de los llamados Procesos de Oxidación Avanzada (POA's).

### Referencias.

1. Alfonso-Prince, JC; Salabert-Tortolo, I; Alfonso-Salabert, I. 2017. La hipertensión arterial: un problema de salud internacional. *Revista Médica Electrónica*. Volumen (39): 4.
2. Barceló, D. y López, M.J. (2008). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. *Fundación nueva cultura del agua*.
3. Cuomba, G. y col. (2023). Spectrofluorimetric determination of beta-blockers atenolol and bisoprolol fumarate residues in senegal natural waters. *Macedonian journal of chemistry and chemical engineering*. Volumen (42); 79-92.
4. Temes, T. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers: *Wat. Res. Vol. (32): 3245-326*.
5. Torrecillas-Rodríguez, I. (2020). Optimización de la degradación de metoprolol en solución acuosa por procesos de oxidación avanzada. Tesis de Maestría.

## MEJORA DEL DESEMPEÑO DE UN HUMEDAL EN LA REMOCIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES USANDO LA DINÁMICA DE FLUIDOS COMPUTACIONAL (CFD).

Alan Garduño Montero, Celestino Odín Rodríguez Nava\*

Departamento de Ingeniería en Sistemas Ambientales, Laboratorio de Calidad del Aire, ENCB, IPN, Ext. 53312, crodriguez@ipn.mx

Palabras clave: Humedal, CFD, Hidrodinámica, Diclofenaco, RTD.

**Introducción.** Los contaminantes emergentes (CE) son todos aquellos compuestos de origen y naturaleza química, tanto orgánicos como inorgánicos, liberados en matrices ambientales que carecen de regulación y monitoreo y que son capaces de provocar daños ambientales y pueden afectar severamente a la salud vegetal, animal y humana. Los CE comprenden una amplia gama de compuestos químicos, productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, agentes tensoactivos y plastificantes y aditivos industriales, los cuales no se encuentran en el monitoreo actual de tratamiento de aguas residuales [1].

Los fármacos son de especial interés debido a su uso intensivo en el cuidado de la salud de la población humana y del ganado. No es extraño encontrar fármacos en cuerpos de agua ya que no suelen ser completamente metabolizados en el cuerpo humano. Desde el punto de vista de las regulaciones de la Unión Europea, se considera que el Diclofenaco y dos hormonas estrogénicas son prioritarias para su tratamiento en aguas residuales (Water Framework Directive 2000/60/EC), de hecho, raramente se encuentran estos fármacos por debajo de los límites de detección en efluentes municipales [2]. Los humedales construidos son estaciones ingenieriles utilizadas para el tratamiento primario o secundario de aguas residuales domésticas, agrícolas, de la industria farmacéutica, entre otras. Se han convertido en opciones atractivas debido a sus bajos costos de instalación y de operación, alta efectividad y sostenibilidad con mínimos efectos adversos para cuerpos de agua. El mecanismo de eliminación de los humedales incluye procesos físicos, químicos y biológicos [3].

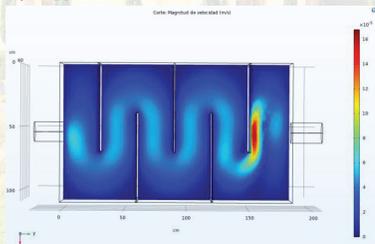


Figura 1. Vista superior del perfil de velocidades de un humedal construido con baffles transversales obtenido con CFD.

La Dinámica de Fluidos Computacional (CFD) consiste en un conjunto de herramientas para el análisis de fluidos en movimiento mediante simulaciones con ordenadores basadas en soluciones a Ecuaciones Diferenciales Parciales por métodos numéricos. La CFD

puede ser útil en el análisis de sistemas que incluyen fenómenos físicos y químicos, tales como transferencia de masa, energía, momento y especies químicas. Por lo anterior, este tipo de enfoques han ganado relevancia en estudios biotecnológicos. Dada la naturaleza emergente de los humedales como instrumentos biotecnológicos, la mejora en los criterios de diseño aún está en discusión. Pero considerando que los mecanismos operantes en estos sistemas son fenómenos de transporte, estos pueden ser estudiados mediante la CFD [4].

**Planteamiento del problema.** Los contaminantes emergentes son compuestos de origen antropogénico cuya presencia en el ambiente representan un peligro para la integridad de ecosistemas. De entre estos compuestos, los fármacos causan especial preocupación debido a sus efectos adversos en especies animales y vegetales y el riesgo potencial que representa para la salud humana por su presencia en cuerpos de agua superficiales y subterráneas. Sus características intrínsecas los hacen sustancias altamente solubles en agua por lo que pueden estar presentes en todas las etapas del ciclo de vida del agua. La continua liberación de estos fármacos en aguas residuales y su resistencia a ser tratados por métodos convencionales, ocasiona que haya un incremento preocupante en ecosistemas.

**Justificación.** Los humedales artificiales han sido considerados como una alternativa sostenible para el tratamiento de efluentes contaminados con fármacos. Considerando los efectos adversos del Diclofenaco en especies animales acuáticas, se considera un contaminante objetivo de especial interés. Dado que los humedales artificiales son sistemas que enfrentan problemas hidrodinámicos y difusivos pueden ser tratados con el enfoque de estudio de la Mecánica de Fluidos. Por tal razón, este trabajo busca la mejora de la remoción de estos compuestos en un humedal subsuperficial construido con *Phragmites australis* como especie vegetal apoyado en la Dinámica de Fluidos Computacional (CFD) para proponer una configuración óptima para la remoción del Diclofenaco como fármaco objetivo.

**Objetivo general.** Mejorar el desempeño de un humedal en la remoción de Diclofenaco rediseñando un sistema existente con base en el estudio de la hidrodinámica y difusión de especies utilizando la Dinámica de Fluidos Computacional (CFD).

### Objetivos particulares.

1. Validar un modelo existente de humedal para generar el marco particular de las ecuaciones de Navier-Stokes, la Ley de Darcy y la Ley de Fick para el caso de estudio.

2. Llevar a cabo el estudio numérico al modelo propuesto de humedal para identificar las zonas de mayor concentración del fármaco.
3. Determinar la toxicidad del Diclofenaco sobre el *Phragmites australis* mediante la prueba CL<sub>50</sub> para determinar la concentración de operación en el humedal.
4. Usar la estimación de la remoción del Diclofenaco mediante el *Phragmites australis* como retroalimentación de la simulación numérica para el rediseño del humedal.

**Estrategia metodológica.** A continuación, se presentan los aspectos generales para alcanzar los objetivos específicos planteados:

1. Establecer el marco teórico del humedal mediante acotar las ecuaciones de Navier-Stokes, la Ley de Darcy y la Ley de Fick.
2. Configurar numéricamente el estudio del humedal usando el software de CFD comercial COMSOL Multiphysics®. Obtener el campo de velocidades, el RTD y el campo de concentraciones mediante simulación.
3. Implementar un estudio CL<sub>50</sub> para determinar el efecto del Diclofenaco sobre el *Phragmites australis* usando un agua sintética a diferentes concentraciones y así establecer los límites para los estudios posteriores. Para evaluar la degradación abiótica y el efecto de la planta se cuantificará el Diclofenaco mediante electroforesis capilar en agua y en tejido vegetal (hoja, tallo y raíz).
4. Manufacturar el modelo/prototipo del humedal optimizado y correlacionar el efecto de la remoción con la simulación numérica para posteriormente retroalimentar el diseño mediante experimentación. Comparar el desempeño en la remoción entre el primer prototipo y el humedal reconfigurado.



Figura 2. Diagrama de flujo de la estrategia metodológica.

**Resultados esperados.** Al concluir el presente estudio se pretende obtener los siguientes resultados:

1. Obtener el estudio numérico que describa con alta precisión la dinámica de fluidos y la distribución del Diclofenaco dentro del humedal construido.
2. Reconocer de entre las distintas configuraciones de humedal subsuperficial aquella que tenga el mejor rendimiento hidrodinámico (en términos del tiempo de residencia) y que impacte favorablemente en la remoción del Diclofenaco.
3. Estimar las contribuciones independientes de cada uno de los elementos constituyentes del humedal construido en la remoción del Diclofenaco.

## DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS EN DIVERSAS MATRICES DE ORIGEN MARINO EN LA LAGUNA DE LA PAZ BAJA CALIFORNIA SUR.

Daniel Santos Ubaldo, Raúl Jacobo Delgado Macuil<sup>1</sup>, Valentín López Gayou & Mauricio Muñoz Ochoa.

Profesor investigador del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA-IPN), 2224650401, [rdelgadom@ipn.mx](mailto:rdelgadom@ipn.mx)

Palabras clave: Metales pesados, contaminación ambiental, biosensores ópticos, espectroscopia de infrarrojo

### Introducción.

La calidad y disponibilidad del agua se ha convertido en una problemática a nivel mundial debido al mal manejo de los residuos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente (1). Los metales pesados se refieren a los metales con un peso molecular que están entre los 63.5-200.6 g mol<sup>-1</sup> y una densidad mayor a 5 g/cm<sup>3</sup>. metales pesados como: Pb<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, As<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> (2). La acumulación de iones de metales pesados en los organismos vivos puede afectar el funcionamiento normal de los sistemas neurológico, inmunológico y cardiovascular cuadro 1. Actualmente el método para la detección de metales pesados es mediante espectroscopia de absorción atómica, espectrometría de masas acoplada a inductancia y generación de hidruros (3). Equipos de trabajo han puesto su confianza en un grupo de dispositivos llamado biosensores enzimáticos debido a las ventajas que estos presentan para el muestreo en el sitio sin necesidad de pretratar las muestras. Según la IUPAC un biosensor es un sistema integrado, capaz de proporcionar datos cuantitativos o semicuantitativos específicos utilizando un elemento de reconocimiento biológico en conexión espacial directa con un transductor (4). Por lo anteriormente mencionado en el presente trabajo se desarrollarán técnicas de análisis de contaminantes implementando biosensores utilizando como matriz principal agua, sedimento, callo de hacha, raya y tunicado.

Cuadro 1. Límites permisibles para metales pesados y enfermedades asociadas.

Concentración mg/L <sup>-1</sup>	Enfermedades
As 0.4	Bronquitis; cáncer de esófago, laringe, pulmón y vejiga; hepatotoxicidad; enfermedades vasculares.
Cd 0.4	Cáncer de próstata, bronquitis, infertilidad y enfermedades vasculares.
Cu 6	Daño en el hígado, los riñones, anemia, irritaciones del intestino delgado e intestino grueso.
Cr 1.5	Nefrototoxicidad; hepatotoxicidad; cáncer de pulmón.
Hg 0.02	Alteraciones neurológicas, autismo, depresión y problemas del aparato respiratorio.
Pb 1	Anemia, esclerosis, fatiga y cáncer de riñón.

XXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

Fuente: NOM-001-ECOL-1996

### Metodología.

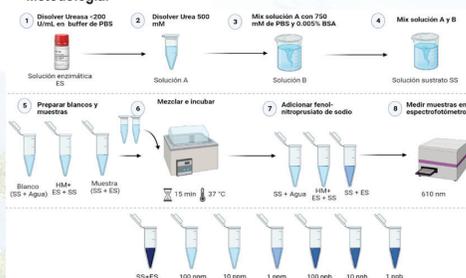


Figura 1. Metodología para el desarrollo de biosensores enzimáticos para la detección de metales pesados.

La enzima fue adquirida en (SigmaAldrich, Alemania), *Canavalia ensiformis* (Jack bean) tipo III, 15,000-50,000 U/g sólido. Se disolvieron 3.5 mg de ureasa en 20 mL 20 mM de buffer de PBS para tener una concentración de 200 U/mL y se almacenó a 4°C, la urea se obtuvo de igual manera de SigmaAldrich ACS Reactivo, 99.0-100.5%, se disolvieron 600 mg de Urea en 750 mL de buffer de PBS se mezcló con 0.005% de Albumina de Suero Bovino y se almacenó a 4°C. Posteriormente se preparó la muestra blanco la cual contenía agua y urea, a la reacción enzimática se adicionaron 10 µL de solución enzimática y 290 µL de solución de Urea, para obtener un volumen final de 300 µL, para la detección de metales pesados primero se etiquetaron los tubos eppendorf de 2 mL, posteriormente se adicionaron 100 µL de diferentes concentraciones de metales pesados y 10 µL solución enzimática se dejó reposar durante 5 min y se añadió solución de Urea se incubaron los tubos en un baño de agua durante 5 min a 25 °C, al finalizar el tiempo de incubación se adicionó el indicador P-nitrofenol a una concentración de 4 mg/mL. Se colocó en agitación durante 5 min y se midieron las absorbancias a 400 nm en un espectrofotómetro. Para los biosensores con la enzima inmovilizada se utilizaron obleas de silicio tipo P de 2 cm<sup>2</sup> se les realizaron modificaciones en la superficie para hacerlo funcional (hidroxilación, funcionalización, activación, inmovilización y la detección de loa metales

**Resultados y discusión.** La velocidad de reacción del biosensor de ureasa se observa en la figura 2, con respecto a diferentes concentraciones de metales pesados (inhibidor) en el lado izquierdo de todas las gráficas se puede observar con la letra R (reacción sin inhibidor), es decir enzima + sustrato, la absorbancia es tan alta alrededor de 3000 a 400 nm, en el caso de la enzima + inhibidor la absorbancia disminuye en un gran porcentaje, lo que demuestra que en concentraciones conocidas el biosensor colorimétrico enzimático es capaz de detectar concentraciones tan bajas como 1 ppb para cloruro de cadmio y óxido de cromo III, y metilmercurio, mientras que para el óxido de arsénico III la concentración mínima detectada fue de 10 ppb, al igual que para el cloruro de plomo.

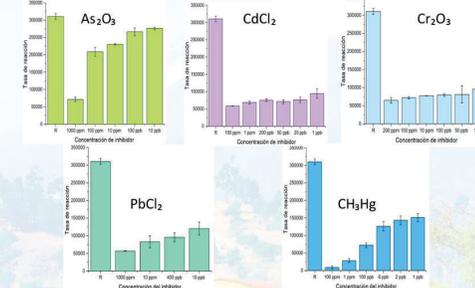


Figura 2. Biosensor de Ureaa adicionando concentraciones conocidas de metales pesados.

En la figura 3, el silicio cristalino se observa en un espectro negro, el silicio hidroxilado muestra la banda característica producida por la tensión asimétrica de los enlaces Si-Si de la capa externa del sustrato de silicio en la región de 610 cm<sup>-1</sup>; las bandas en 895 cm<sup>-1</sup> y 1105 cm<sup>-1</sup> se atribuyen a vibraciones Si-O-H, asimismo, se observan enlaces SiO<sub>2</sub> como parte de la interfaz cristalina del silicio. Además, las vibraciones de tensión asimétrica y simétrica de los enlaces Si-O-Si se observan a 733 cm<sup>-1</sup>. El análisis del proceso de funcionalización (espectro de color rojo) muestra la atenuación de las bandas de silicio, así como la de los grupos silanol, en la superficie del silicio; este efecto puede explicarse por la unión de la deposición de la capa 3APTMS sobre el sustrato. El mismo espectro, exhibe características importantes del proceso de funcionalización en la región de 1192 cm<sup>-1</sup>, aquí se asigna el balanceo de los grupos Si-O-CH<sub>3</sub>. Además de observar las bandas correspondientes al grupo -OH en la superficie del silicio a 1640 cm<sup>-1</sup>, mientras que en la banda a 1572 cm<sup>-1</sup> se encuentran los grupos NH<sub>2</sub> del aminosilano. En el proceso de activación con EDC/NHS (espectro azul), se observan las bandas características de los dobles enlaces O=C-N en 1540 cm<sup>-1</sup>, C=O en 1636 cm<sup>-1</sup> y NH<sub>2</sub> en 1606 cm<sup>-1</sup> atribuidas a EDC/Servicio Nacional de Salud. En el espectro verde, correspondiente a la inmovilización de la enzima (espectro verde), se observan las bandas atribuidas a la amida I y II a 1653 cm<sup>-1</sup> y 1543 cm<sup>-1</sup> respectivamente. Finalmente, el espectro en color violeta corresponde a la interacción de la enzima

XXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

con el metal pesado donde podemos observar disminución en las bandas de amida primaria y secundaria. Esto lo atribuimos a esta etapa son parciales. Los espectros ATR-FTIR muestran las vibraciones moleculares de los enlaces característicos de cada etapa del autoensamblaje, la implementación de este tipo de técnicas espectroscópicas nos permite verificar que nuestro autoensamblaje se realizó exitosamente. La activación y la inmovilización tienen bandas muy similares, las diferencias en amplitud y forma son claras, sin embargo, para demostrar con mayor detalle que nuestro biosensor está correctamente ensamblado.

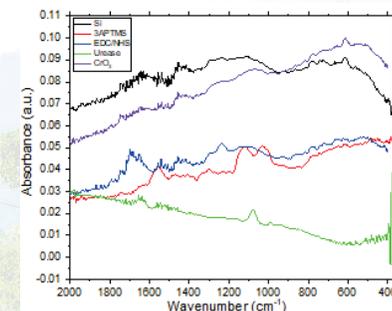


Figura 3. Biosensor de silicio con la enzima inmovilizada mostrado para Oxido de Cromo III.

### Conclusiones y perspectivas.

Los resultados observados con respecto al biosensor enzimático en solución es que es muy sensible y se podrían obtener los resultados en cuestión de minutos, los resultados con respecto al biosensor inmovilizado es que podemos almacenarlo durante más tiempo y obtener resultados favorables. Se pretende disminuir el límite de detección, así como la sensibilidad del biosensor propuesto.

**Agradecimientos.** Agradezco al laboratorio de nanobiotecnología, al Dr. Raúl Delgado al Dr. Orlando Zaca y al Dr. Valentín López, al CONAHCYT por la beca otorgada con número 896752.

### Referencias.

- Malikula, R., Kaonga, C., Mapoma, H., Chiipa, P. & Thulu, F. (2022). Heavy Metals and Nutrients Loads in Water, Soil, and Crops Irrigated with Effluent from WWTPs in Blantyre City, Malawi. *Water* (Switzerland), 14(1-3).
- Shadman, S., Daneshi, M., Shafiei, F., Azimimehr, M., Khorasgani, M., Sadeghian, M., Motaghi, H. & Mehrgardi, M. (2019). *Aptamer-based electrochemical biosensors*. In *Electrochemical Biosensors*. 213-251 Elsevier Inc. Iran
- Schwarzenbach R, Egli T, Hofstetter T, Von Gunen U, Wehrli B. 2010. Global water pollution and human health. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 35, 109-136. Elsevier Inc. India
- LakshmiPriya, T. & Gopinath, S. (2019). An Introduction to Biosensors and Biomolecules. In *Nanobiosensors for Biomolecular Targeting*. 1-21

## DISEÑO DE UN DETECTOR C4D PARA LA CUANTIFICACIÓN DE METFORMINA EN AGUA DURANTE SU DEGRADACIÓN POR PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA

Jaime Manuel Castañeda Sánchez, Ignacio Villanueva Fierro\*,

Instituto Politécnico Nacional CIIDIR Durango, Sigma #119 Fracc. 20 de Noviembre II, 34220, Durango, Dgo., México. 618 123 6546  
 ifierro62@yahoo.com

Palabras clave: C4D, fotocatalisis, metformina, degradación.

### Introducción.

Los contaminantes emergentes son compuestos no regulados que se encuentran diseminados en el ambiente y se han detectado en aguas residuales, fuentes de abastecimiento de agua, aguas subterráneas e incluso en agua potable. Actualmente existe un interés creciente por contaminantes emergentes provenientes de los residuos farmacéuticos. Gran cantidad de estos se acumulan en las aguas, afectando a la fauna y potencialmente a las personas. Ciertos de estos residuos contienen compuestos recalcitrantes lo que los hace difíciles de degradar, así como también de detectar debido a sus bajas concentraciones. De acuerdo con Proceedings of the National Academy of Sciences (3), en un estudio internacional se encontraron importantes cantidades de ingredientes farmacéuticos activos alrededor de varios ríos del planeta, de los cuales los compuestos identificados con más frecuencia fueron la metformina carbamazepina y la cafeína. En Norte América se encontró Metformina en concentraciones desde los 19 ng/L, llegando a hasta los 29.3 µg/L.

### Planteamiento del problema.

Los residuos del fármaco Metformina, al considerarse contaminante emergente, representa un riesgo al medio ambiente ya que gran cantidad de estos se acumulan en las aguas, afectando a la fauna y potencialmente a las personas. Estos residuos contienen compuestos recalcitrantes lo que los hace difíciles de degradar, así como también de detectar debido a sus bajas concentraciones. La Metformina es un medicamento de amplio uso para el tratamiento de diabetes tipo II que aun en bajas concentraciones provocan efectos adversos como la feminización en los peces. Estos se pueden degradar por métodos de oxidación avanzada como la fotocatalisis, tecnología comprobada para la degradación de variedad de fármacos (2). Una manera de optimizar el proceso de degradación por fotocatalisis es analizar su progreso de manera precisa, continua y con un bajo costo. Para esto se requiere emplear técnicas analíticas altamente sensibles adecuadas a dichas necesidades. El detector C4D es una técnica de medición electroquímica utilizada para la detección de compuestos, específicamente para detectar concentración/conductividad de iones en un capilar (1). Esta es una técnica altamente sensible y de bajo costo con una amplia versatilidad de aplicaciones (4).

### Justificación.

La acumulación de residuos del fármaco Metformina en aguas residuales al ser un contaminante emergente representa un riesgo ambiental. La técnica de fotocatalisis heterogénea, proceso de oxidación avanzada ha sido validada para degradar este tipo de

fármacos. Con las técnicas analíticas convencionales se limita el análisis del progreso al no ser posible hacer mediciones en el tiempo de manera constante y detectar concentraciones en ppb con un bajo costo. Mediante el uso de una técnica analítica implementando un detector C4D mejorado con software se pretende resolver dichas limitantes y así obtener un método analítico con la sensibilidad y accesibilidad capaz de cuantificar los productos de la degradación de Metformina en función del tiempo, lo que permitirá una respuesta y retroalimentación más completa.

### Objetivo General.

Diseñar un software analítico aplicado a un detector C4D para cuantificar las concentraciones los subproductos del fármaco Metformina durante el proceso de degradación por fotocatalisis.

### Objetivos Particulares.

- Diseñar un software para mejorar la sensibilidad del detector C4D.
- Validar el detector con analitos por seleccionar (fluoruros, cloruros, y/o metformina).
- Determinar el porcentaje de degradación de Metformina por fotocatalisis heterogénea en un modelo experimental en medio acuoso, mediante DQO, Absorbancia, etc.
- Determinar el porcentaje de degradación de Metformina por fotocatalisis heterogénea en un modelo experimental en medio acuoso, mediante la implementación de la técnica diseñada con el detector C4D.
- Comparar los resultados.

### Metodología.

- Mediante el software Proteus y LABVIEW se diseñará un circuito que mejore la detección de las señales del C4D. Esto por medio de filtrar las señales utilizando la transformada de Fourier, aplicando procesos de amplificación para obtener señales limpias y con ruido mínimo.
- Hacer las pruebas correspondientes al nuevo diseño para el análisis de señales con el C4D con distintos analitos, evaluando rangos de detección, tipos de compuestos capaz de detectar, exactitud y precisión.
- Para el estudio de la degradación de Metformina en solución acuosa, mediante fotocatalisis heterogénea, se utilizará un reactor de placa plana, ajustando un flujo laminar e impregnando el soporte con un semiconductor, realizando experimentos en un lapso de tiempo y tomando muestras periódicamente para analizar el progreso por medio de DQO, Absorbancia, etc.

- El C4D será implementado de manera continua en el contenedor de la solución acuosa durante todo el proceso de degradación por fotocatalisis, para procesar las señales y obtener resultados continuos del progreso de la degradación.
- Comparar los resultados de la degradación obtenidos por el método analítico utilizando el detector C4D en contra de los resultados obtenidos por los otros métodos analíticos.

### Resultados esperados.

- Obtener un mejor desempeño en los niveles de detección del detector C4D al aplicar la técnica diseñada.
- Determinar los resultados del primer modelo experimental de la degradación de Metformina por fotocatalisis heterogénea.
- Obtener los resultados del modelo experimental durante la degradación de Metformina por fotocatalisis heterogénea aplicando la técnica diseñada del detector C4D.
- Obtener mediciones acertadas del progreso de la degradación de Metformina que permitan validar la técnica diseñada.

### Referencias.

1. Abdalla Ahmed E, Rafea Elamin E, Ahmed O. Alnajjar & Hassan Y. 2022 Application of Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection (CE-C<sup>4</sup>D). *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 52:3, 535-543.
2. Estrada-Martínez, A., et al. 2023. Heterogeneous photocatalysis for the treatment of wastewater from cattle bath. *Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD*.
3. Wilkinson John L., et al. 2021. Pharmaceutical pollution of the world's rivers. <https://doi.org/10.1073/pnas.2113947119>.
4. Zhiyao H, Jun L, Wenbo X, Haifeng i, Baoliang W, Haiqing L. 2012, Design of capacitively coupled contactless conductivity detection sensor, *Flow Measurement and Instrumentation*.

## ESTUDIO DE LOS FACTORES DE MODULACIÓN DEL METABOLISMO DE *BACOPA PROCUMBENS* EN LA ACUMULACIÓN Y COMPOSICIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y REDUCTORA DE NANOMATERIALES.

Vargas Anaya Elizabeth, Delgado Macuil Raúl Jacobo, Rosas Cárdenas Flor de Fátima, Avelino Flores María del Carmen, Zamilpa Álvarez Alejandro\*, López Gayou Valentín\*.

CIBA-IPN. Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km. 1.5, Tlaxcala, CP 90700, Tel. 2225770176, Correo electrónico: valgayou@hotmail.com

Palabras clave: Cultivo *in vitro*, Compuestos fenólicos, Resistencia antibacteriana

**Introducción.** La resistencia a los antibacterianos (RAM), que se define como la capacidad que tienen las bacterias para adaptarse y crecer en presencia de estos fármacos, tiene un alto impacto en la salud pública nacional en donde se ha observado una creciente resistencia de bacterias gram negativas y un elevado consumo de antibióticos a nivel hospitalario; en algunos casos, de aquellos denominados como de último recurso. Ante el panorama actual de no contar con suficientes agentes antibacterianos en la práctica clínica para generar un recambio, la Organización Mundial de la Salud (OMS) presentó en el 2016 el Plan de acción mundial sobre la RAM, en el que establece 5 objetivos entre los que se destaca la necesidad de aumentar la inversión e investigación en nuevos agentes antibacterianos. Las nanopartículas (NPs) metálicas han sido ampliamente estudiadas como tales al tener la capacidad de actuar de forma simultánea a través de distintos mecanismos de acción; ocasionando que, para generar resistencia una bacteria necesitaría mutar distintos genes al mismo tiempo. Sin embargo, estas estructuras suelen sintetizarse por medios químicos que generan nanopartículas que no son biocompatibles; para contrarrestar esta toxicidad, se prefiere la síntesis verde mediada por metabolitos secundarios; normalmente de origen vegetal como los de *Bacopa procumbens*, especie ampliamente distribuida en el valle de México y que presenta compuestos con actividad antibacteriana (2) y capacidad reductora de nanomateriales.

Es así como el presente trabajo plantea aumentar la acumulación de metabolitos secundarios de interés en el cultivo *in vitro* de *Bacopa procumbens* mediante la modulación de su metabolismo, para determinar la actividad antibacteriana y mecanismo de acción de los compuestos aislados y las nanopartículas metálicas obtenidas a partir de ellos.

**Metodología.** El cultivo *in vitro* basal de *Bacopa procumbens* se estableció haciendo una desinfección superficial de explantes nodales con una solución de hipoclorito de sodio y sembrando en medio MS al 50% suplementado con sacarosa al 30%, el subcultivo y recolección de material vegetal se realizó cada 4 semanas de cultivo. Este material vegetal recuperado se secó y molió para posteriormente obtener el extracto hidroalcohólico por reflujo empleando agua y etanol como solventes, el extracto finalmente se concentró a presión reducida y se liofilizó para realizar una extracción líquido-líquido en acetato de etilo. A partir de la fracción orgánica extraída se realizó el proceso de separación de los compuestos de interés empleando cromatografía de columna gravitacional abierta (CC) de fase normal, cuyas fracciones fueron monitoreadas mediante

cromatografía de capa fina (TLC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para realizar reuniones de aquellas con una composición química similar. Posteriormente, con las reuniones obtenidas, se continuó con la purificación de los compuestos fenólicos y terpénicos de la especie mediante CC de fase reversa. Empleando el extracto, la fracción orgánica y las reuniones que contienen los compuestos de interés, se establecieron las condiciones de síntesis de nanopartículas de oro y plata, para lo cual se emplearon soluciones del material vegetal a evaluar y soluciones de los precursores metálicos; ácido cloraurico o nitrato de plata según fuera el caso, y se ensayaron relaciones de material biológico y sal metálica a temperatura ambiente y en condiciones de calor y presión en autoclave. Al finalizar estos ensayos, las nanopartículas obtenidas fueron analizadas por espectrofotometría UV-Visible para la identificación del pico de resonancia de plasmón característico. Finalmente, se determinó la actividad antibacteriana de las fracciones de interés mediante la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de las fracciones vegetales de interés, para lo cual se realizó la técnica de microdilución en placas de 96 pozos, empleando 5 cepas de bacterias gram positivas y 5 cepas gram negativas, así como gentamicina como control.

**Resultados y discusión.** El cultivo *in vitro* de la especie fue establecido con éxito y actualmente se mantiene un cultivo stock para los futuros ensayos de regulación metabólica, y para la obtención de material vegetal. A partir de dicho material recolectado, se comenzó a realizar la separación de los compuestos de interés, en primera instancia se seleccionaron las fracciones con compuestos de mediana y alta polaridad de la CC de fase normal, posteriormente mediante una serie de CCs de fase reversa se lograron obtener fracciones de composición fenólica y terpénica, mismas que se ilustran en la Figura 1. En dicha cromatoplaqueta de fase reversa se puede apreciar compuestos con un Rf comprendido entre de 0.5 y 0.7 que revelan de color amarillo y rosa con solución Komarowsky, dichos compuestos presentan características similares a PG-A, compuesto fenólico de interés debido a su comprobada capacidad de síntesis de NPs y actividad antibacteriana, el análisis por HPLC y UV-Vis permitió determinar que son posibles isómeros dadas sus características químicas. También es posible observar compuestos de coloración azul de probable naturaleza terpénica por la coloración característica de estos compuestos al ser revelados con la solución Komarowsky.

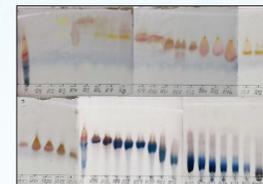


Figura 1 Cromatografía de capa fina de fase reversa de las reuniones de la Columna de *B. procumbens*, revelada con solución Komarowsky

Por otra parte, los ensayos de síntesis de nanopartículas de oro nos corroboran que los compuestos de interés se producen en el cultivo *in vitro* ya que el extracto presenta la capacidad reductora de nanopartículas de oro con características similares a las reportadas por Hernández Beleta en el 2016 (Figura 2A). En cuanto a las nanopartículas de plata, la síntesis a temperatura ambiente no fue favorable (Figura 2C), por lo que se implementó una metodología consistente en someter la mezcla de extracto con nitrato de plata a un proceso de esterilización, como resultado observamos un pico característico de absorción del plasmón de superficie con una mejor definición y estrecho, indicativo de una distribución de tamaño de partícula más homogénea (Figura 2D). Finalmente, las nanopartículas de oro obtenidas a partir de la Reunión 12 presentan picos más angostos y con mayor absorción (Figura 2B), lo cual es consistente con lo reportado en bibliografía, donde autores recomiendan usar compuestos aislados o fracciones en vez de utilizar extractos enteros para obtener una mayor concentración de nanopartículas con un tamaño de partícula uniforme y un mejor control de las variables de reacción.

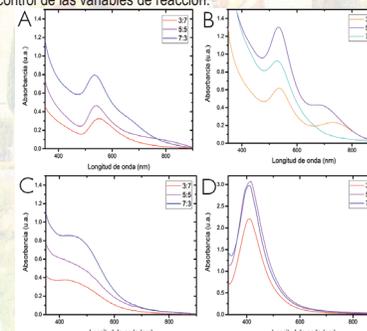


Figura 2 Espectros UV-visible de las nanopartículas sintetizadas a partir del material vegetal de *B. procumbens*

Finalmente, las fracciones fenólicas presentaron actividad antibacteriana con MICs comprendidas entre los 8 y los 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  contra bacterias gram positivas, estas fracciones están compuestas

principalmente por ácidos fenólicos, compuestos que pueden inducir cambios en la hidrofobicidad y en la carga superficial de la membrana bacteriana. Por otra parte, las fracciones terpénicas presentan MICs menores a 8 y hasta 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  contra bacterias gram negativas, dichas fracciones presentan un alto contenido en saponinas, compuestos que pueden interactuar con los esteroides presentes en las membranas celulares, lo que podría incrementar la permeabilidad de la membrana, formar poros en ella y comprometer su funcionalidad.

**Conclusiones y perspectivas.** La presencia de los compuestos de interés en el cultivo *in vitro* de *B. procumbens* confirma su viabilidad para ser utilizado como una fuente de obtención alternativa a la recolección silvestre. Por su parte, se establecieron las condiciones de síntesis de nanopartículas de plata a partir del material vegetal de la especie, implementando calor y presión al sistema. Actualmente se continúa con el trabajo de separación de los compuestos de interés; a la vez que se realizan las pruebas antibacterianas para determinar la actividad de los compuestos de interés, así como de las nanopartículas conjugadas a ellos y sus posibles mecanismos de acción.

### Referencias.

1. Eleraky, N.E., Allam, A., Hassan, S.B. y Omar, M. M. (2020). Nanomedicine fight against antibacterial resistance: an overview of the recent pharmaceutical innovations. *Pharmaceutics*, 12(2), 1–51.
2. González-Cortazar, M., López-Gayou, V., Tortoriello, J., Domínguez-Mendoza, B. E., Ríos-Cortés, A. M., Delgado-Macuil, R., ... Zamilpa, A. (2019). Antimicrobial gastrodin derivatives isolated from *Bacopa procumbens*. *Phytochemistry Letters*, 31(February), 33–38.
3. Salleh, A., Naomi, R., Utami, N. D., Mohammad, A. W., Mahmoudi, E., Mustafa, N., & Fauzi, M. B. (2020). The potential of silver nanoparticles for antiviral and antibacterial applications: A mechanism of action. *Nanomaterials*, 10(8), 1–20.
4. Loblic, A., Pavál, N. E., Mangalagiu, I. I., Gheorghitá, R., Teliban, G. C., Amárucci-Mantu, D., & Stoleru, V. (2023). Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. *Molecules*, 28(3).

## ESTUDIO ÓMICO DE MOLÉCULAS ASOCIADAS A QUÓRUM SENSING EN UN CONSORCIO BACTERIANO CON POTENCIAL PARA LA DEGRADACIÓN DE MICROPARTÍCULAS DE PET.

Raquel Rodríguez Gutiérrez, Diana Verónica Cortés Espinosa\*.

Diana Verónica Cortés Espinosa, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, 222 550 6071, dcortes@ipn.mx.

Palabras clave: Quórum, sensing, consorcio, degradación, microplásticos, PET.

**Introducción.** Los plásticos, también conocidos como polímeros sintéticos, son materiales de bajo costo, ligeros y muy resistentes que pueden ser moldeados en un sin fin de productos, los cuales, es posible emplear en una gran variedad de aplicaciones<sup>3</sup>. El aumento prominente en la cantidad de estos contaminantes tiene consecuencias preocupantes para el medio ambiente y la biota. Existen varias tecnologías y estrategias para eliminar o reducir la contaminación por este tipo de contaminantes. Sin embargo, la biodegradación se considera la forma más adecuada de degradación en suelo y agua. Esta tecnología se basa en el uso de microorganismos capaces de modificar la estructura química de los contaminantes, así como usarlos como fuente principal de carbono<sup>6</sup>. En este sentido, el uso de consorcios, es decir, de una variedad de microorganismos ha mostrado tener mejor desempeño y tolerancia durante el tratamiento de contaminantes.

En general, la biodegradación comprende cuatro etapas; durante la etapa de fragmentación, tiene lugar la acción catalítica de las enzimas microbianas, por otra parte, para que este proceso tenga lugar, debe haber interacción entre las células conformadoras de consorcio e interacción contaminante-consorcio, es decir, la comunicación celular da lugar a la adhesión de estas a la superficie del contaminante<sup>4</sup>, esto se traduce en la formación de biopelículas<sup>5</sup>. El quórum sensing es el método de comunicación celular, que se basa en la interacción de una molécula, la cual se caracteriza por ser de señal difusible, llamada autoinductor, a una proteína activadora transcripcional, la cual relaciona la expresión génica con la densidad de población celular<sup>2</sup>, es decir, una vez que se alcanza una concentración umbral (correspondiente a una densidad de población crítica), se da la expresión gen o un conjunto de genes degradadores de plástico<sup>1</sup>. Las ciencias ómicas representan herramientas útiles para dilucidar los procesos descritos anteriormente para, de esta forma, comprenderlos y mejorarlos y con ello, combatir la contaminación por plásticos.

**Planteamiento del problema.** El aumento en la demanda de plásticos, su incorrecta disposición y carácter recalcitrante, representa un escenario de contaminación ambiental importante. La comprensión de mecanismos, como el quórum sensing, a través de técnicas ómicas, representa una importante herramienta dentro de los tratamientos biológicos empleados para combatir esta problemática, por sus importantes funciones dentro del proceso de biodegradación.

**Justificación.** El estudio de la comunicación entre células presentes en una comunidad microbiana, su interacción con los contaminantes, el conocimiento de los metabolitos, enzimas y rutas de transformación que tienen lugar durante este proceso mediante el empleo de herramientas ómicas, representa una oportunidad en el campo de la biodegradación para combatir la problemática que representa la contaminación ambiental por microplásticos.

**Objetivo general.** Identificar moléculas asociadas a quórum sensing producidas por un consorcio bacteriano durante la formación de biopelículas involucradas en la biotransformación de micropartículas de PET.

**Objetivos particulares.** Construir un consorcio bacteriano con potencial para la formación de biopelículas sobre la superficie de PET. Identificar los metabolitos y proteínas producidos por el consorcio durante la formación de biopelículas. Proponer un sistema de comunicación e interacción entre el consorcio bacteriano y las micropartículas de PET.

**Estrategia metodológica.** Etapa 1. Construcción de un consorcio microbiano con potencial para adherirse a la superficie de micropartículas de PET y deteriorarla. Actividades características de esta etapa:

- Recolección de muestras de PET
- Screening de microorganismos
- Selección de microorganismos
- Purificación y conservación
- Identificación molecular
- Pruebas de antagonismo microbiano
- Estandarización de condiciones de cultivo

Técnicas empleadas durante esta etapa son: Secuenciación 16s rARN.

Etapa 2: Estudio metabólico

Caracterización de los metabolitos secretados durante la interacción de cada una de las especies, así como del consorcio conformado, con micropartículas de PET y que pudieran estar implicados en el mecanismo de quórum sensing para la formación de biopelículas, así como análisis de la superficie plástica en busca de modificaciones físicas y químicas y su relación con la presencia del consorcio y metabolitos encontrados. Actividades propias de esta etapa:

- Cinética de cultivo líquido para cada una de las especies seleccionadas

XXXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

- Cinética de cultivo líquido para el consorcio conformado
- Extracción de metabolitos
- Determinación de sustancias poliméricas extracelulares en presencia y ausencia de los metabolitos producidos
- Determinación de autoinductores
- Comparación de resultados obtenidos

Técnicas empleadas en esta etapa son HPLC – MS, GC – MS, SEM, FTIR – ATM, SPR.

Etapa 3: Análisis Secretómico

Caracterización de proteínas secretadas durante la interacción de cada una de las especies, así como del consorcio conformado, con micropartículas de PET y que pueden estar implicadas en el proceso de transformación de micropartículas de PET. Actividades propias de esta etapa:

- Cinética de cultivo líquido para cada una de las especies seleccionadas
- Cinética de cultivo líquido para el consorcio conformado
- Extracción de proteínas secretadas
- Determinación de proteínas
- Comparación de resultados obtenidos

Técnicas implicadas en el cumplimiento de este objetivo son: electroforesis 2-D y MALDI-TOF / TOF

**Resultados esperados.** Constitución de una comunidad microbiana estable producto de la evolución y adaptación a entornos hechos de plástico, en la cual, la expresión de nuevos genes degradadores de plástico, vías de degradación resultantes y redes de interacción entre microorganismos, tenga lugar.

### Referencias.

1. Brelles-Mariño, G. (2001). Detection, purification and characterisation of quorum-sensing signal molecules in plant-associated bacteria. *Journal of Biotechnology*, 91(2-3), 197–209.
2. Chong, T.-M., Koh, C.-L., Sam, C.-K., Choo, Y.-M., Yin, W.-F., & Chan, K.-G. (2012). Characterization of Quorum Sensing and Quorum Quenching Soil Bacteria Isolated from Malaysian Tropical Montane Forest. *Sensors*, 12(4), 4846–4859.
3. Hopewell, J., Dvorak, R., & Kosior, E. (2009). Plastics recycling: challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2115–2126.
4. Singh, R., Paul, D., & Jain, R. K. (2006). Biofilms: implications in bioremediation. *Trends in Microbiology*, 14(9), 389–397.
5. Stanley, N. R., & Lazizzera, B. A. (2004). Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Molecular Microbiology*, 52(4), 917–924.

6. Yuan, J., Ma, J., Sun, Y., Zhou, T., Zhao, Y., & Yu, F. (2020). Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics. *Science of The Total Environment*, 715, 136968.

XXXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

## DESARROLLO DE UN BIOSENSOR COLOIDAL PARA LA DETECCIÓN DE METALES PESADOS.

Nina Torres Valencia, Valentín López Gayou\*, Manasés González Cortazar, Raúl Jacobo Delgado Macuil, Orlando Zaca Morán.  
CIBA-IPN Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala CP 90700, Tel. 2225770176  
Correo electrónico: vlopezg@ipn.mx

Palabras clave: *Biosensor coloidal, nanopartículas metálicas, metales pesados, síntesis verde.*

**Introducción.** Un sensor se refiere a un grupo de dispositivos que generan una respuesta a cualquier cambio físico y químico en su entorno. Los sensores colorimétricos a partir de nanopartículas de oro (NPAu) y plata (NPAg) poseen la capacidad de arrojar resultados directamente sin la necesidad de un equipo sofisticado debido a que, al interactuar la molécula de reconocimiento con el analito, la solución presentará un cambio de color que se aprecia a simple vista, además, al analizar mediante espectroscopía es posible observar el desplazamiento del pico de absorbancia por la resonancia de plasmón superficial (RPS) (Chang *et al.*, 2019). Los extractos de plantas contienen grupos funcionales que interactúan con metales como anillos hidroxilo, carboxilo y aromáticos que interactúan con metales, además, favorecen la capacidad de síntesis verde de nanopartículas y la detección colorimétrica de metales pesados. Kumar *et al.*, en (2014) reportaron que el extracto acuoso al 10 % (p/v) de *Hibiscus sabdariffa* sintetizó nanopartículas de plata (NPAg) y el producto de esta síntesis permitió la detección colorimétrica de metales como cadmio (Cd) plomo (Pb) y mercurio (Hg). Otros autores han reportado la detección de Hg a través de nanopartículas metálicas obtenidas por síntesis verde como Kahandal *et al.*, en (2023) quien reportó el uso del extracto acuoso al 10 % (p/v) de la flor de *Acacia nilotica* para la síntesis de NPAg y la detección colorimétrica de Hg en un gradiente de concentraciones desde 10 a 100 ppm (m/v). El uso de los extractos acuosos de hojas frescas de *Euphorbia geniculata* y *Artemisa vulgaris* también han sido estudiados en la síntesis de NPAg y la detección colorimétrica de Hg a través de la capacidad que poseen estas nanoestructuras ya que muestran una señalización al momento de la interacción con los iones  $Hg^{+2}$  (Santhosh *et al.*, 2019) (Adhikari *et al.*, 2022). El objetivo de este trabajo será evaluar la capacidad que poseen algunas especies vegetales presentes en México y que han sido estudiadas por nuestro equipo de trabajo, para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas metálicas con la intención de desarrollar un biosensor coloidal para la detección de metales pesados presentes en cuerpos de agua dulce y salada.

**Planteamiento del problema.** La contaminación del medio ambiente con iones de metales pesados adquiere una preocupación importante en el mundo. Algunos metales descritos como pesados poseen una naturaleza tóxica, no biodegradable y persistente en el ecosistema. La detección y medición de estos iones por los métodos tradicionales como la espectrofotometría de absorción atómica, espectroscopía de emisión atómica, fluorescencia de rayos X, voltamperometría de redisolución anódica entre otros, ofrecen resultados certeros, sin embargo, para realizar un monitoreo constante, representan

inversiones costosas, poca portabilidad para realizar valoraciones *in situ*, además requieren laboratorios y personal especializado. Es por ello que surge la necesidad de desarrollar un método de detección *in situ*, de bajo costo, sensible, selectivo y que además cuya producción sea obtenida por metodologías nobles con el ambiente que permitan hacer monitoreos con la adecuada periodicidad y de esta forma, tomar acciones preventivas con el objetivo de reducir los efectos negativos a la salud derivados del contacto con estas fuentes contaminadas.

**Justificación.** A pesar de la fiabilidad de los métodos establecidos en la norma NMX-AA-051-SCFI-2001 estos son superados por sus desventajas al momento de realizar mediciones *in situ* con resultados al instante, por lo cual es necesario el desarrollo de una forma de detección rápida, sensible, específica, rentable y ecológica que permita reconocer la presencia de metales pesados tóxicos en cuerpos de agua para la implementación de acciones preventivas.

**Objetivo general.** Desarrollar un biosensor coloidal para la detección de metales pesados como cadmio (Cd) mercurio (Hg) arsénico (As) y cobre (Cu) en cuerpos de agua dulce y salada.

**Objetivos particulares.** La síntesis verde (mediante extractos de plantas) de nanopartículas metálicas para la identificación de especies vegetales que tienen potencial actividad como biosensores.

Evaluaciones *in vitro* de los biosensores obtenidos con soluciones estándar de metales pesados y a diferentes concentraciones de salinidad.

Análisis con herramientas colorimétricas, espectroscópicas y microscópicas para la identificación del mecanismo de interacción entre el biosensor con los iones de metales pesados y su influencia en el cambio de coloración en función de la concentración.

Evaluación *in situ* de los biosensores seleccionados.

### Estrategia metodológica.

Para el cumplimiento de los objetivos, se presenta la siguiente estrategia metodológica tomando como referencias las metodologías descritas por Kumar *et al.*, en (2014), Kahandal *et al.*, en (2023) y Chen *et al.*, en (2015).



Figura 1. Estrategia metodológica para el cumplimiento de objetivos.

**Resultados esperados.** El desarrollo de un biosensor coloidal obtenido por nanopartículas metálicas sintetizadas por extractos vegetales para la detección rápida, sensible, específica, rentable y ecológica de metales pesados tóxicos en cuerpos de agua dulce y salada, para garantizar un monitoreo constante, *in situ* y con resultados al instante.

### Referencias.

- Chang, C.-C., Chen, C.-P., Wu, T.-H., Yang, C.-H., Lin, C.-W., & Chen, C.-Y. (2019). Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Strategies for Chemical and Biological Sensing Applications. *Nanomaterials*, 9(6), 861. <https://doi.org/10.3390/nano9060861>.
- Chen, Z., Zhang, C., Tan, Y., Zhou, T., Ma, H., Wan, C., Lin, Y., & Li, K. (2015). Chitosan-functionalized gold nanoparticles for colorimetric detection of mercury ions based on chelation-induced aggregation. *Microchimica Acta*, 182(3-4), 611-616. <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1365-8>.
- Kahandal, A. W., Sharma, L., Sirdeshmukh, V., Kulkarni, A., & Tagad, C. K. (2023). A sensitive image-based optical detection of heavy metal ions using green synthesized silver nanoparticles. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(8), 9077-9088. <https://doi.org/10.1007/s13762-022-04539-4>.

## EVALUACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA PARED CELULAR PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL, EN CURVAS DE CRECIMIENTO DE GRAMÍNEA C4 Y FRECUENCIAS DE CORTE EN GRAMÍNEA C3

José Agustín Pacheco-Ortiz, Rigoberto Castro-Rivera\*, Francisco Roberto Quiroz-Figueroa, Gisela Aguilar Benítez, María Myrna Solís-Oba, Valentín López-Gayou, Brenda Yanin Azcárraga-Salinas, Andres Castro Sierra.

\*CIBA Tlaxcala. Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km. 1.5, C.P. 90700. Tlaxcala, México. Tel: (0155) 57296000 ext. 87805, correo electrónico: rcastror@ipn.mx.

Palabras clave: Dinámicas de crecimiento, frecuencias de corte, materia prima, pasto C4, pasto C3.

**Introducción.** Debido a su metabolismo fotosintético las gramíneas se clasifican en C3 y C4 diferenciándose en el porcentaje de los componentes de la pared celular (celulosa, lignina y hemicelulosa) que le dan estructura y soporte características que definen su uso, ya sea como alimento, construcción y en la producción de biocombustibles. Sin embargo, para este último propósito las especies C4 son las más utilizadas debido a su producción de biomasa. Las especies C3 han sido poco evaluadas para este propósito por registrar rendimientos menores en comparación con las C4, y no se ha considerado la relación inversa entre el componente lignina y la eficiencia en la producción de azúcares (1,3,4,5).

Varios autores (2,4,5) han evidenciado que la producción de biomasa depende de factores ambientales y del manejo agronómico principalmente las relacionadas con las frecuencias de defoliación o cosecha en especies perennes, por lo que es posible definir estrategias de manejo que permitan la mayor producción de un componente en particular de la pared celular en cualquier época del año, haciendo más eficiente el aprovechamiento de la biomasa destinada al rendimiento. Es por ello por lo que el objetivo del presente estudio es evaluar los cambios bromatológicos y estructurales de gramíneas C4 y C3.

**Metodología.** En ambas especies se evaluaron las siguientes variables: altura de planta, relación hoja:tallo, rendimiento de materia seca, composición morfológica, así como los componentes de la pared celular o componentes bromatológicos mediante mediciones espectrofotométricas y FTIR. Posteriormente se harán cortes histológicos y observaciones de la pared celular con microscopía confocal. Se realizarán cortes histológicos 0.5 cm en ambas especies, se harán tinciones Fucsina básica (lignina) 561 nm, Direct Red 23 (celulosa) 555 nm.

A la fecha se han realizado mediciones ambientales de temperatura, humedad relativa y radiación por medio de un Data logger.

En la especie C4 *Urochloa brizantha*, se evaluó una dinámica de crecimiento de 12 semanas correspondientes a la época de verano, bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones; mientras que para la especie C3 *Lolium perenne*, se utilizará un diseño en bloques con arreglo factorial. Los datos obtenidos se ordenaron por semana, mes, época y rendimiento anual, se analizarán mediante el procedimiento PROC MIXED, y las medias serán estimadas por LSMEANS del Software SAS. Se harán análisis de correlación, componentes principales y medidas repetidas en el tiempo (4).

**Resultados y discusión.** En la variable altura y materia seca para la curva de crecimiento del pasto C4, conforme el periodo de recuperación o rebrote aumenta se registra un incremento en ambas

XXXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

variables, siendo la semana 12 la que registró ( $P < 0.05$ ) mayor altura 150.25 cm (Figura 1); sin embargo, el rendimiento de materia seca no registró diferencias ( $P > 0.05$ ) entre la semana 9, 10, 11 y 12, siendo estas donde se da la mayor acumulación de forraje en la curva de crecimiento (Figuras 2).

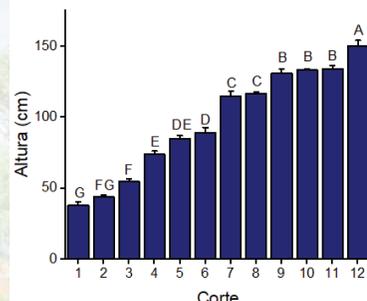


Figura 1. Efecto en la altura en la curva de crecimiento de la gramínea C4

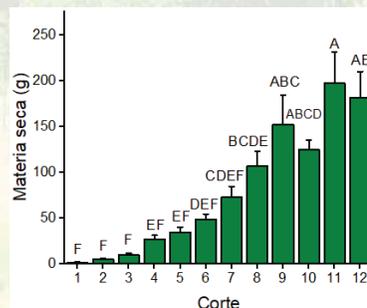


Figura 2. Efecto en la materia seca en la curva de crecimiento de la gramínea C4.

Con respecto a la variable relación hoja:tallo se observa que después de la semana 5 lo que se produce es una mayor cantidad de tallos con respecto a la hoja, siendo este último componente el que tiene

menor cantidad de lignina y por ende mayor facilidad de degradación ya sea *in vitro* o *in situ* (Figura 3).

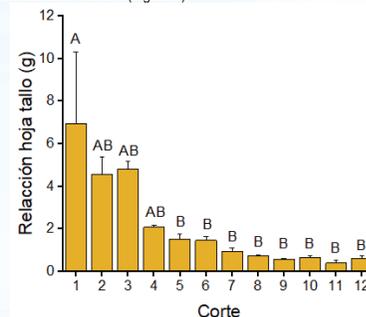


Figura 3. Efecto de la relación hoja:tallo en la curva de crecimiento de la gramínea C4

Lo anteriormente expuesto se confirma con en la figura 4, donde después de la semana 5 se registra un descenso gradual del componente hoja y se observa el ascenso del aporte al rendimiento del componente tallo; así mismo, en la semana 8 inicia el cambio de la fase vegetativa a la reproductiva, indicando con ello que el rendimiento de biomasa se ralentiza para posteriormente producir semillas o cariopsis.

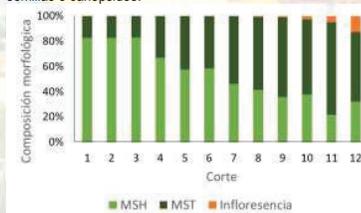


Figura 4. Composición morfológica en la curva de crecimiento de la gramínea C4

Diferentes autores mencionan que, a partir de la emergencia de la inflorescencia el pasto está en equilibrio entre el rendimiento y el valor nutritivo, considerando valores de proteína, energía y en menor importancia los bromatológicos; sin embargo, si se pretende hacer más eficiente el proceso de producción de bioetanol se debe evaluar con respecto a la variable más importante de donde se obtienen los azúcares o carbohidratos que serán destinados a la producción de este compuesto (1,3).

Con respecto a la especie C3, los resultados obtenidos en el FTIR evidencian que las conforme el periodo de recuperación entre cortes sucesivos es más largo, el contenido de lignina incrementa y la celulosa disminuye (Figura 5), por lo que realizar cortes más

frecuentes permitirá obtener una mayor cantidad de celulosa y hemicelulosa en la biomasa cosechada, produciendo una mayor cantidad de azúcares disponibles para la fermentación (1,5).

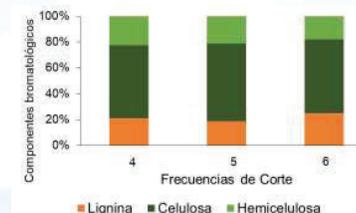


Figura 5. Componentes bromatológicos de la pared celular de pasto C3 en frecuencias de corte 4, 5 y 6.

### Conclusiones y perspectivas.

Para la especie C4 evaluada en la época de verano se sugiere hacer cortes entre las semanas 5, 6 y 7, dependiendo los resultados que se obtengan en el FTIR de los componentes bromatológicos; sin embargo, estos pueden cambiar por el cambio de época, es por ello por lo que se debe continuar con la evaluación de las curvas de crecimiento.

En la especie C3, cosechar cada 5 semanas, permitirá un mejor aprovechamiento de la celulosa; sin embargo, también hay evidencia de que los bioestimulantes intervienen en la formación de los componentes bromatológicos.

### Referencias.

- Byrt, CS; Grof, CP; Furbank, RT. 2011. C4 plants as biofuel feedstocks: optimising biomass production and feedstock quality from a lignocellulosic perspective. *J Integr Plant Biol.* 53(2):120-135.
- Heaton, EA; Flavell, RB; Mascia, PN; Thomas, SR; Dohleman, FG; Long, SP. 2008. Herbaceous energy crop development: recent progress and prospects. *Curr Opin Biotechnol.* 19(3):202-209.
- Rajak, RC; Banerjee, R. 2020. An innovative approach of mixed enzymatic venture for 2G ethanol production from lignocellulosic feedstock. *Energy Convers Manag.* 207, 112504.
- Rueda, JA; Jimenez, EO; Hernández-Garay, A; Enríquez-Quiroz, JF; Guerrero-Rodríguez, JD; Quero-Carrillo, AR. 2016. Growth, yield, fiber content and lodging resistance in eight varieties of *Cenchrus purpureus* (Schumach.) Morrone intended as energy crop. *Biomass Bioenergy.* 88:59-65.
- Scholl, AL; Menegol, D; Pitarelo, AP; Fontana, RC; Filho, AZ; Ramos, LP; Dillon, AJP; Camassola, M. 2015. Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) pretreated by steam explosion as a carbon source for cellulases and xylanases in submerged cultivation. *Ind Crops Prod.* 70: 280-291

XXXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

## PRODUCCIÓN Y APLICACIÓN DE LOS BIOPOLÍMEROS PRODUCIDOS POR MICROORGANISMOS AUTÓCTONOS DE LA RESERVA DE LA BIÓSFERA RÍA LAGARTOS (YUCATÁN, MÉXICO).

Eduardo Quitzé Vivanco Núñez, Blanca Estela Barragán Huerta\*.

Av. Wilfrido Massieu No. 399, Nueva Industrial Vallejo, Gustavo A. Madero, C.P. 07738, Ciudad de México, Tel. 5567296300 Ext. 52310  
bbarragan@jpn.mx

Palabras clave: Biopolímeros, Biosurfactantes, Halófilas, Ría Lagartos, Yucatán, Salinas

**Introducción.** En la actualidad, debido a las actividades humanas, vastas extensiones de tierra se han visto afectadas, incluyendo la acumulación de grandes cantidades de residuos, incluyendo residuos urbanos altamente contaminantes. Frente a esta problemática, el estudio de biopolímeros con actividad surfactante representa un área de oportunidad en diversos campos de la remediación ambiental. Además de su capacidad para la fabricación de plásticos biodegradables, estos compuestos poseen propiedades que les permiten la eliminación de una variedad de contaminantes, como hidrocarburos, aceites, metales pesados y fitopatógenos. (1)

Como resultado de esto, se ha dedicado esfuerzo al desarrollo de alternativas para la producción de biopolímeros a un menor costo y con un menor impacto ambiental. Los resultados preliminares de laboratorio indican que la región alberga microorganismos productores de biopolímeros con propiedades surfactantes. Estas características tienen diversas aplicaciones en el área ambiental, como la remediación de suelos, la mejora de la producción agrícola y la eliminación de contaminantes hidrofóbicos (hidrocarburos), entre otras. (2)

Estudios realizados en la región informan sobre la presencia de microorganismos autóctonos del género *Halomonas* que podrían utilizarse en procesos de fermentación para la producción de biopolímeros del tipo polihidroxicanoatos. (3)

Los polihidroxicanoatos (PHA) son polímeros biodegradables más sustentables que los obtenidos de manera sintética, los cuales son producidos en respuesta a la limitación de nutrientes y exceso de carbono. (4)



Figura 1. Mapa satelital de la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, Yucatán, México.

**Planteamiento del problema.** La Reserva de la Biosfera Ría Lagartos es un Área Natural Protegida que históricamente ha albergado cuatro asentamientos humanos. Gran parte de la población se dedica principalmente a actividades económicas relacionadas a la pesca, turismo, agricultura y extracción de sal. Actividades como la agricultura o el turismo generan un impacto ambiental dentro de la reserva, por lo que la producción y aplicación de un biopolímero con actividad surfactante sintetizado a partir de microorganismos autóctonos podría representar una oportunidad sustentable en la región.

**Justificación.** El crecimiento poblacional, el turismo, la agricultura y otras actividades económicas llevadas a cabo en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, tienen un impacto ambiental en la región. Por lo tanto, el estudio de biopolímeros con actividad surfactante producidos por microorganismos autóctonos con potenciales aplicaciones agrícolas, ambientales o industriales, podría desempeñar un papel fundamental en el desarrollo sostenible de Ría Lagartos.

**Objetivo general.** Aislar y caracterizar el biopolímero con actividad surfactante sintetizado por un microorganismo halófilo autóctono presente en Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, Yucatán, así como identificar posibles aplicaciones ambientales, agrícolas y en la elaboración de biopelículas.

### Objetivos particulares.

1. Aislar e identificar la presencia de microorganismos halófilos presentes en las muestras de agua y sedimento de la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos capaz de producir un biopolímero con actividad surfactante.
2. Identificar el biopolímero con actividad surfactante de interés sintetizado a partir del metabolismo microbiano.
3. Determinar las condiciones óptimas para el crecimiento del microorganismo para la producción de biopolímeros con actividad surfactante.
4. Desarrollo de potenciales aplicaciones agrícolas.
5. Desarrollo de potenciales aplicaciones ambientales.
6. Desarrollo de potencial biopelícula a partir del biopolímero sintetizado.
7. Escalamiento de aplicación del biopolímero con actividad surfactante para la producción de biopelículas.

### Estrategia metodológica.

La estrategia metodológica para el presente estudio será dividida en cuatro etapas; Etapa 1, correspondiente a la toma de muestras, extracción e identificación del biopolímero; Etapa 2, correspondiente a la optimización del medio para la extracción del compuesto de interés; Etapa 3, correspondiente al desarrollo de potenciales aplicaciones para el biopolímero con actividad surfactante en el área ambiental, agrícola y en el desarrollo de biopelículas y finalmente la Etapa 4, la cual contempla el escalamiento de aplicación del surfactante para la degradación de contaminantes a nivel de reactor. La metodología simplificada se representa en la Figura 2.

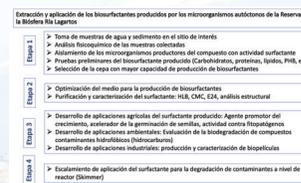


Figura 2. Resumen metodológico para la producción y aislamiento de biopolímeros con actividad surfactante por microorganismos halófilos de la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, Yucatán.

**Resultados esperados.** El presente estudio busca aislar y caracterizar los biopolímeros con actividad surfactante producidos por microorganismos halófilos de la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, así como estudiar y evaluar potenciales aplicaciones para el compuesto en el área ambiental, agrícola y para el desarrollo de biopelículas, así como escalar al desarrollo de un bioreactor para la degradación de contaminantes, particularmente hidrocarburos. Esperando que la investigación pueda coadyuvar en el desarrollo sostenible de la región.

### Referencias.

1. Cartaya, O., Reynaldo, I., Peniche, C., & Garrido, M., (2011), Empleo de biopolímeros naturales como alternativa para remediación de suelos contaminados por metales pesados. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 27, 1.
2. Koseva, M. & Rusbandi, E., (2017), Trends in biomanufacture of polyhydroxyalcanoates with focus on downstream processing. International Journey of Biological Macromolecules, 107, 762-778 pp.
3. Cervantes-Uc, J., Abreu-Castillo, O., Ramírez, J., Solís, S., Herrera, W., Bastarrachea, M., Lizama, N., Ku, A., Rincón, S., Rivera, G., Magaña, D. & Lizama, G., (2023), Polyhydroxyalcanoates produced by *Halomonas*

XXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

- gomseomensis, an extreme halophilic bacterium, from different carbon sources. Research Square, 10 (21), 1-17 pp.
4. Ospina, S., (2015), Biopolímeros y su aplicación en medio ambiente. Revista Colombiana de Biotecnología, 7 (2), 5 pp.

## EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN SUSTENTABLE DE BIOCOMBUSTIBLES A PARTIR DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS Y LÍQUIDOS GENERADOS EN LA FABRICACIÓN DEL MEZCAL

Ma. del Refugio Hernández López, Blanca Estela Barraquán Huerta, Iván Moreno Andrade, Juan Manuel Viguera Cortés, Marco Antonio Garzón Zúñiga\*

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Calle Sigma Num. 119 Fracc. 20 de noviembre II, Durango, Dgo., Méx. C. P. 34220. Teléfono (55) 5729 6000 ext. 82604, (618) 814 4540 ext. 82604; e-mail: [marco.cuerna@gmail.com](mailto:marco.cuerna@gmail.com), [mgarzon@ipn.mx](mailto:mgarzon@ipn.mx)

Palabras clave: Bagazo, biocombustibles, digestión anaerobia, pretratamiento, proceso dos etapas, vinaza.

**Introducción** Los combustibles fósiles han sido, por mucho, la fuente de energía dominante, especialmente el petróleo, el carbón y el gas natural. Sin embargo; las reservas de estos combustibles son limitadas y su uso a gran escala está asociado con el deterioro ambiental. Por esta razón es necesario utilizar fuentes de energía renovables tales como la biomasa. En este sentido, la planta de agave es materia prima potencial para la producción de biocombustibles. El mezcal es una bebida que se produce a partir de la planta de agave, y por cada litro de mezcal producido se generan 15 kg de bagazo y de 8 a 15 L de vinazas que contaminan el medio ambiente (1). El presente trabajo tiene por objetivo evaluar el uso de bagazo y vinazas para la producción de hidrógeno y metano, mediante un proceso de digestión anaerobia húmeda y seca en dos etapas. El proceso de digestión supone una serie de fases sucesivas que incluyen hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Al considerar la separación física de las fases de digestión anteriores, (fase acidogénica y fase metanogénica), a través de dos reactores conectados en serie, se puede probar el supuesto de que la digestión con separación de fases mejora la producción de hidrógeno y metano, superando así al proceso de digestión de una sola etapa (todos los pasos de la digestión en un solo reactor). Adicionalmente se evaluará un pretratamiento ácido y alcalino con la finalidad de mejorar la digestibilidad del bagazo con base al contenido de lignina, azúcares reductores y la producción de biogás.

**Metodología.** El bagazo de agave fue recolectado en las instalaciones de una fábrica de mezcal en donde se lleva a cabo la elaboración del mezcal de forma artesanal, ubicada en el municipio de Nombre de Dios, Durango. El bagazo se secó a temperatura ambiente y el tamaño de sus fibras se redujo a una longitud promedio de 0.3 mm. Para la caracterización fisicoquímica de las fibras de bagazo se realizó la determinación de: humedad, pH, cenizas, carbono orgánico total (COT), nitrógeno total Kjeldahl (NTK) y relación C/N. El contenido de hemicelulosa, celulosa y lignina se determinó mediante los análisis de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina ácido detergente (LAD) de acuerdo a la técnica descrita por Goering y Van Soest. (1970). Los azúcares reductores (AR) se determinaron por el método colorimétrico del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) propuesto por Miller. (1959). Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Debido a la estructura recalcitrante del bagazo y con la finalidad de favorecer la producción de biocombustibles a partir de esta biomasa, se hace necesario la hidrólisis de sus polisacáridos. La hidrólisis ácida diluida y la hidrólisis alcalina son los métodos más utilizados para la recuperación de azúcares debido a su efectividad y bajo costo. La

hidrólisis ácida se llevó a cabo dispersando bagazo al 5 % (p/v) en una solución de HCl al 2 % a 90 °C durante 2 h. Al final de la hidrólisis, las fibras se lavaron con agua de grifo hasta que el filtrado alcanzó un pH entre 6- 6.5. La hidrólisis alcalina se realizó mezclando 40 g de bagazo con 334 mL de solución alcalina (KOH al 0.5 % (p/v) + Ca(OH)<sub>2</sub> al 2 % (p/v)). La muestra se mantuvo a temperatura ambiente (no menos de 20 °C) durante 24 h, se agitó manualmente a intervalos de 4 h. Para los experimentos de digestión anaerobia (DA) en dos etapas se utilizó como inóculo lodo anaerobio de una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Para la fase de acidogénesis del proceso DA en dos etapas el inóculo se trató térmicamente a 104 °C durante 24 h. Para la fase de metanogénesis del proceso de dos etapas, el inóculo se utilizó sin ningún tratamiento. La evaluación de los hidrolizados ácidos y alcalinos de bagazo para la producción de hidrógeno y metano se llevan a cabo en lote, en reactores tipo cilíndrico de 1 L, con un volumen de trabajo de 700 mL y un espacio de cabeza de 300 mL. Las condiciones operacionales aplicadas en los ensayos de producción de hidrógeno y metano son: temperatura de 37 °C, mezclador por agitación magnética, pH de 5.5 y 7 para hidrógeno y metano, respectivamente. Para evaluar los procesos de DA se analizaron: sólidos totales (ST), sólidos totales volátiles (STV) y ácidos grasos volátiles (AGV). La producción de biogás será equivalente a la cantidad desplazada de agua, la cual será recogida en una probeta graduada para determinar su volumen. La composición del biogás se determinará mediante cromatografía de gases. El proceso de DA húmeda en dos etapas se llevará a cabo con una concentración de ST < 15 %. El proceso de codigestión húmeda de bagazo y vinazas se realizará con una concentración de ST < 15 % y vinazas (85, 170, 255, 340, 425 y 510 mL), se añadirá agua para fijar el volumen de trabajo de cada ensayo. La DA seca en dos etapas se llevará a cabo con una concentración de ST entre 15 y 40 %. La identificación de la población microbiana en los procesos de digestión se realizará utilizando la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) acoplada a la electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante.

**Resultados y discusión.** Los resultados de la composición física y química del bagazo, mostraron un contenido de humedad promedio de 82.30 %. Mientras que, para las propiedades de materia seca, cenizas, materia orgánica y COT, mostrados en el cuadro 1, se encontraron entre los valores reportados por Martínez-Gutiérrez *et al.* (2015). El contenido de NTK de 0.20 % está alejado de los valores reportados (0.30- 0.38 %) para otros tipos de bagazos reportados por Martínez-Gutiérrez *et al.* (2015) y Ordaz Díaz *et al.* (2019).

Cuadro 1. Características físicas y químicas del bagazo

Propiedad	Bagazo
Humedad (%)	82.30 ± 1.71
Materia seca (%)	17.70
pH	4.2
Cenizas (%)	10.15 ± 0.64
Materia orgánica (%) <sup>bs</sup>	89.85
Carbono orgánico total (% COT) <sup>bs</sup>	49.91
Nitrógeno total Kjeldahl (% NTK) <sup>bs</sup>	0.20 ± 0.20
Relación C/ N	249.60
Hemicelulosa (%) <sup>bs</sup>	2.15 ± 2.15
Celulosa (%) <sup>bs</sup>	33.65 ± 0.32
Lignina detergente ácido (% LDA) <sup>bs</sup>	11.34 ± 0.13
Azúcares reductores (g/L AR)	4.8 ± 1.64

<sup>bs</sup> Porcentajes de composición en base seca

El bagazo mostró un contenido de lignina de 11.34 ± 0.13 %, mayor al valor reportado para el bagazo de *Agave angustifolia* con 10.68 %. El contenido de hemicelulosa fue de 2.15 ± 2.15 %, este valor se encuentra por debajo de los valores de referencia reportados para otros tipos de bagazo (19- 28%). El contenido de celulosa de 33.65 ± 0.32 % es similar a lo reportado para otros tipos de bagazo de agave de mezcal.

Los tratamientos para hidrolizar los polisacáridos presentes en las fibras del bagazo se aplicaron buscando minimizar la pérdida de celulosa y hemicelulosa para su posterior hidrólisis enzimática, evitar la formación de posibles inhibidores para procesos posteriores, consumir menos químicos y utilizar los de menor costo, reducir los costos de materiales de construcción de los reactores donde se realizarán los tratamientos, minimizar la demanda de energía y producir menos residuos. El pretratamiento ácido se realizó con el objetivo de hidrolizar la fracción de hemicelulosa, mientras que el pretratamiento alcalino permite la hidrólisis de la lignina. Ambos pretratamientos posibilitan la alteración de la estructura de la celulosa. En el cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos en cada uno de los pretratamientos en lo referente a contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina.

Cuadro 2. Composición química del bagazo antes y después de cada pretratamiento

Pretratamiento	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Ninguno	33.65 ± 0.32	2.15 ± 2.15	11.34 ± 0.13
Ácido	49.27 ± 1.24	6.02 ± 0.88	30.24 ± 1.49
Alcalino	40.44 ± 1.15	3.33 ± 0.95	17.37 ± 0.33

Mientras que, en cuanto al contenido de azúcares reductores (AR), el bagazo sin pretratamiento químico presentó un contenido de AR de 0.205 ± 0.003 g/L, el bagazo tratado con ácido mostró un mayor contenido de AR con respecto al bagazo sin pretratamiento con un

contenido de 0.210 ± 0.005 y el bagazo tratado con álcali un contenido de AR de 0.085 ± 0.003.

La evaluación de los métodos de pretratamiento químico (ácido y alcalino) sobre el bagazo, así como un tratamiento control con bagazo sin pretratar mediante fermentación oscura (FO) (primera etapa del proceso de digestión anaerobia) se están llevando a cabo. Se han realizado 5 ciclos terminados. Cada ciclo tuvo lugar durante 21 días. En la Figura 1, se muestra la producción promedio de biogás acumulado de cada uno de los hidrolizados de bagazo, donde se observa que al término del quinto ciclo el hidrolizado de bagazo ácido tiene la mayor producción de biogás (251 ± 87.90 mL), en tanto que el hidrolizado alcalino tuvo una producción de 178 ± 37.88 mL y el tratamiento control 170 ± 49.74 mL de biogás.

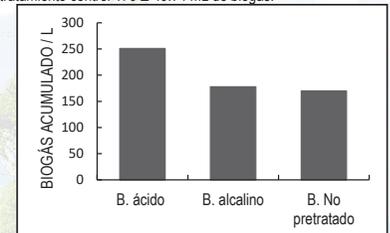


Figura 1 Evaluación de pretratamientos químicos (producción de biogás)

**Conclusiones y perspectivas** El tratamiento ácido y alcalino fueron efectivos para aumentar los porcentajes de celulosa y hemicelulosa, pero no para la solubilización de la lignina, esto se puede explicar desde el hecho de que dichos pretratamientos permitieron cambiar la estructura de las fibras de bagazo incrementando la superficie interna y porosidad por hinchamiento, provocando la destrucción de los enlaces entre la lignina y otros polímeros. En el proceso de FO el hidrolizado ácido presentó la mayor producción acumulada de biogás. En consecuencia, finalizada la primera etapa de FO, se puede combinar una segunda etapa de tratamiento (es decir, digestión anaerobia para la producción de metano, con la finalidad de optimizar el uso de la materia orgánica restante y, por lo tanto, aumentar la recuperación de energía y la estabilización de la materia orgánica.

### Referencias.

- Martínez-Gutiérrez, G. A., Ortiz-Hernández, Y. D., Aquino-Bolaños, T., Bautista-Cruz, A., & López-Cruz, J. Y. (2015). Properties of *Agave angustifolia* Haw. bagasse before and after its composting. *Comunicata Scientiae*, 6(4), 418–429. <https://doi.org/10.14295/CS.v6i4.800>

## CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, HISTOLÓGICA, FISIOLÓGICA Y QUÍMICA DE PLANTAS POLIPLÓIDES DE ARÁNDANO EN EL CONTEXTO DE CAMBIO CLIMÁTICO.

Alejandra María Araujo Heraldez, Jesús Lucina Romero Romero\*.  
CIDIR-UNIDAD SINALOA, 55 57 29 60 00 / 55 57 29 63 00 ext. 88036, jromeror@ipn.mx.

Palabras clave: Arándano, nuevas variedades, cambio climático, tolerancia a la sequía, estrés abiótico.

**Introducción.** El arándano, es una especie originaria de Norteamérica que produce berries comestibles, la cual ha sido domesticada desde hace 70 años. Es por ello, que ya existen disponibles numerosas variedades, las cuales son el resultado del cruzamiento entre diversas especies del género *Vaccinium*. El desarrollo comercial de este berry a nivel global, se centra en el hemisferio norte, principalmente en Norteamérica y las especies de mayor importancia económica son: arándano bajo o "lowbush" (*Vaccinium angustifolium* Alton), arándano ojo de conejo o "rabbit eye" (*Vaccinium ashei* Reade) y arándano alto o "highbush" (*Vaccinium corymbosum* L.) (1). La expansión del arándano highbush que crece favorablemente en lugares más fríos y regiones más cálidas, se verán desafiadas por las alteraciones en la patrones de temperatura y lluvia, ambos asociados con aumentos en las concentraciones atmosféricas de CO<sub>2</sub>. Considerando que uno de los principales factores que afecta la producción agrícola es el clima, el nuevo escenario productivo instalado, como resultante del cambio climático, genera una mayor incertidumbre en el cultivo de los berries en México y el mundo (2).

Las plantas durante su desarrollo enfrentan diversos eventos ambientales extremos. Para adaptarse y sobrevivir, han desarrollado redes genéticas de autorregulación elaboradas y complejas que consideran como elemento clave los factores de transcripción (FT). Estos FTs generalmente funcionan como reguladores en las plantas que responden a estrés biótico y abiótico. Específicamente, se determinó que la familia de FT MYB está ampliamente involucrada en una variedad de estrés abióticos (3,4).

**Planteamiento del problema.** La producción comercial del arándano en México, representa una oportunidad de desarrollo económico para el país y en particular para el Estado de Sinaloa. Sin embargo, la falta de variedades de arándano mexicanas, con mejor adaptación a las condiciones climáticas del país y los cambios climáticos extremos, amenazan con mermar su rendimiento. Lo anterior, hace necesario el desarrollo de nuevas variedades de esta especie, que mantengan los niveles de productividad bajo las condiciones climáticas de nuestro país.

**Justificación.** El arándano *Vaccinium corymbosum*, es una especie nativa del centro y norte de Estados Unidos en donde las condiciones edafoclimáticas se caracterizan por un alto frío invernal con receso de crecimiento y temperaturas moderadas a altas en verano, así como suelos muy ácidos con pH cercanos a 5 y abundante materia orgánica. Debido a lo anterior, en Sinaloa y en otros estados de la República, los arándanos deben ser cultivados en grandes macetas con sustrato artificial y fertirrigación que imiten las condiciones de su centro de origen. Sin embargo, las condiciones climáticas atípicas tan

extremas, como altas temperaturas y humedad relativa en el estado, pueden afectar el desarrollo de las plantas y las características organolépticas de la fruta. Por lo anterior, en este proyecto se pretende caracterizar la respuesta fisiológica y su desarrollo productivo, de nuevas plantas poliplóides de arándano, creciendo bajo las condiciones climáticas del estado de Sinaloa. Para ello, se considerarán parámetros genéticos y fisiológicos, realizando una comparación con las plantas parentales, lo que permitirá continuar con el desarrollo de una nueva variedad de arándano para el estado y el país.

**Objetivo General.** Caracterizar genética, histológica, fisiológicamente y químicamente plantas poliplóides de arándano creciendo en el estado de Sinaloa.

### Objetivos particulares.

1. Caracterizar genéticamente líneas poliplóides de arándano establecidas en el estado de Sinaloa.
2. Masificar y establecer líneas poliplóides de arándano bajo condiciones de invernadero.
3. Caracterizar fisiológica, química y agrónomicamente líneas poliplóides de arándano cultivadas en el estado de Sinaloa.

**Estrategia metodológica.** Se utilizarán líneas potencialmente poliplóides de arándano, a las que se determinará su contenido de ADN mediante citometría de flujo y su cariotipo por tinción de cromosomas y observación al microscopio óptico. También, se realizará una evaluación histológica del tamaño y densidad estomática y contenido de clorofila. En paralelo, se llevarán las líneas a condiciones de invernadero para su óptimo desarrollo. Se considerarán al menos 5 réplicas de cada planta candidata para realizar las evaluaciones fisiológicas vinculadas a su desarrollo tales como, eficiencia del uso del agua (EUA) y capacidad productiva. Se utilizará como control plantas de la misma variedad no sometidas al tratamiento de poliplóidización. Los frutos serán evaluados determinando características químicas como pH, acidez titulable, contenido de antocianinas y capacidad antioxidante mediante métodos estandarizados previamente (5).

**Resultados esperados.** Las nuevas plantas poliplóides de arándano cultivadas en el estado Sinaloa, presentarán características genéticas, fisiológicas y organolépticas superiores a sus parentales.

### Referencias.

1. Hancock, J., Retamales, J. 2012. **Blueberries**. Crop production science in horticulture series. Vol.21. Pag. 1-17. Ohio, USA.

2. INIA. 2021. **Berries y cambio climático: estrategias de manejo para afrontar las condiciones de estrés abiótico y la presión de plagas y enfermedades**. Villa Alegre, Centro Regional de Investigación INIA Raihuén. Editor: Javier Chilian A.
3. Krishna, P., Pandey, Gareema; Thomas, Richard; and Parks Sophie. 2023. Improving blueberry Fruit Nutritional Quality through Physiological and Genetic Interventions: A Review of Current Research and Future Directions. *Antioxidants*. 12, 810.
4. Wang M, Huang Q, Lin P, Zeng Q, Li Y, Liu Q. 2019. The overexpression of a transcription factor gene VbWRKY32 enhances the cold tolerance in *Verbena bonariensis*. *Frontiers in Plant Science*;10:1746.
5. Li, D.; Li, B.; Ma, Y.; Sun, X.; Lin, Y.; Meng, X. Polyphenols, Anthocyanins, and Flavonoids Contents and the Antioxidant Capacity of Various Cultivars of Highbush and Half-High Blueberries. *J. Food Compos. Anal.* 2017, 62, 84–93.

## EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE EMPLEANDO BIOINDICADORES Y SENSORES EN LA CIUDAD DE DURANGO, MÉXICO.

Sofía Lizeth De Casas Reyes, Isaías Chairez Hernández\*

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango-IPN. Dirección: Calle Sigma Núm. 119 Fracc. 20 de Noviembre II C.P. 34220 Durango, Dgo. Teléfono (618) 814 4540. Correo: ichairez@hotmail.com, ichairez@ipn.mx

Palabras clave: hormigas, sensores de calidad del aire, contaminación atmosférica.

**Introducción.** La ciudad de Durango, ubicada en una región geográfica diversa y con características climáticas variables, no está exenta de los efectos negativos de la contaminación atmosférica. Los contaminantes criterio, que incluyen partículas en suspensión (PM10 y PM2.5), monóxido de carbono (CO), dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) y ozono (O<sub>3</sub>), son indicadores clave de la calidad del aire y tienen implicaciones directas en la salud pública y la sostenibilidad del medio ambiente [1]. El monitoreo tradicional de la contaminación del aire se ha basado en estaciones fijas de medición lo que puede limitar la comprensión de la variabilidad espacial y temporal de los contaminantes. En contraste, la utilización de sensores de medición de calidad del aire proporcionará una visión más dinámica de las concentraciones de contaminantes, permitiendo una evaluación más precisa de las áreas de alta exposición y los patrones de dispersión. Además, se considerará la capacidad de ciertas especies de plantas e insectos para actuar como bioindicadores de la calidad del aire. La sensibilidad de estos organismos a los contaminantes atmosféricos puede reflejar la presencia y concentración de sustancias tóxicas en el entorno, como lo metales pesados, los cuales pueden ser perjudiciales para la salud de los seres vivos si se presenta en altas concentraciones [2]. En este contexto, se abordará la problemática de la contaminación atmosférica en la ciudad de Durango a través de un enfoque multidisciplinario empleando sensores de medición de contaminantes y bioindicadores para comprender la dinámica de algunos contaminantes.

**Planteamiento del problema.** Investigar si existe una correlación entre las mediciones de contaminación atmosférica obtenidas a través de bioindicadores (para metales pesados) y sensores de medición de calidad del aire (para contaminantes criterio). Si se puede establecer una correlación significativa, esto podría proporcionar un método más eficiente y rentable para monitorear la calidad del aire.

**Justificación.** La ciudad de Durango cuenta con tres estaciones de monitoreo de contaminantes criterio que sirven para evaluar y poder informar la calidad del aire en la zona donde opera cada una. Aunque las estaciones tienen personal técnico para su operación, no tienen equipo especializado para analizar la información. Además, tienen problemas frecuentes y necesitan mantenimiento constante, aunado a que solo cubren un radio de monitoreo de 2 km. Implementar un prototipo para una estación de monitoreo de contaminantes criterio portátil empleando sensores de medición de contaminantes permitiría

lograr un muestreo más amplio y una representación más precisa de la distribución de los contaminantes en un área determinada. Con los datos obtenidos de los monitoreos se podrán generar mapas mensuales de la calidad del aire, información valiosa que pueden servir a las instituciones encargadas de la toma de decisiones informadas en la gestión ambiental y la salud pública [3]. Además, la integración de bioindicadores en el monitoreo de la contaminación, en este caso de hormigas y hojas de un arbusto (trueno) proporcionará un enfoque complementario y holístico para evaluar los efectos de la contaminación atmosférica en los ecosistemas urbanos.

**Objetivo general.** Determinar la concentración de metales pesados y contaminantes criterio en el aire en diferentes puntos de muestreo empleando como bioindicadores el follaje del trueno (*Ligustrum lucidum*) y hormigas (*Pogonomyrmex rugosus* y *Pogonomyrmex barbatus*) y sensores de calidad del aire con el fin establecer una relación entre estos como indicadores de contaminación y evaluar la calidad del aire de la ciudad de Durango.

**Objetivos particulares.** 1) Construir una estación de monitoreo de contaminantes empleando tarjetas Arduino, sensores de partículas y gases adecuados para el monitoreo de contaminantes criterio en tiempo real además de configurar hardware y software necesario que permita su correcto funcionamiento. 2) Establecer la metodología para el muestreo y análisis de las muestras de metales pesados (Pb, Zn, Mn, Cu, Fe) con bioindicadores y seleccionar ubicaciones estratégicas de la ciudad de Durango para el monitoreo de contaminantes criterio (PM10, PM2.5, CO, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>) con sensores de calidad del aire y bioindicadores. 3) Instalar los sensores en las ubicaciones seleccionadas, monitorear las concentraciones de contaminantes criterio y realizar el muestreo y análisis de las muestras de bioindicadores. 4) Analizar la relación entre los resultados obtenidos en el monitoreo con sensores de calidad del aire y bioindicadores para realizar análisis estadísticos y modelado de datos que permitan identificar patrones de concentración de contaminantes, relaciones espaciales y temporales, y tendencias a lo largo del tiempo.

**Estrategia metodológica.** Primeramente, se construirá una estación Arduino de monitoreo de contaminantes con sensores de partículas, gases, humedad y temperatura con precisión y confiabilidad comprobadas. En segundo lugar, se seleccionarán un total de ocho puntos de muestreo en la ciudad más uno de control fuera de la ciudad; los muestreos tanto con bioindicadores como con sensores se realizarán una vez al mes durante año y medio. La metodología

para el muestreo y análisis de las muestras para cada bioindicador se realizará con base en el cuadro 1.

Cuadro 1. Metodología para el muestreo y análisis de muestras con bioindicadores.

Bioindicador	Hormiga		Trueno
	<i>Pogonomyrmex rugosus</i>	<i>Pogonomyrmex barbatus</i>	<i>Ligustrum lucidum</i>
	100 muestras	100 muestras	60 muestras
Recolección de muestras	Excavación cerca del hormiguero a 30 cm de profundidad. Uso de envase de polietileno como trampa.		Toma de hojas del arbusto a una altura de 2 m.
Preparación de las muestras	Secado y pulverizado. Digestión ácida.		Separación de hojas lavadas y sin lavar. Secado y pulverizado. Digestión ácida.
Análisis de las muestras	Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA).		

Finalmente, con los datos obtenidos de los sensores de medición de contaminantes criterio y de metales pesados con los bioindicadores, se llevará a cabo el análisis estadístico (ANOVA, correlación, regresión) y modelado de datos (interpolación de Kriging, redes neuronales) para para evaluar la correlación entre las concentraciones de contaminantes y las respuestas de los bioindicadores.

**Resultados esperados.** Se espera obtener mediciones precisas de la contaminación atmosférica utilizando tanto bioindicadores como sensores, además de mapas mensuales de la calidad del aire. También se espera establecer una correlación entre las mediciones obtenidas a través de ambos métodos, identificar zonas de mayor contaminación y evaluar la calidad del aire en la ciudad.

### Referencias.

- Aránguez, E., Ordóñez, J. M., Serrano, J., Aragonés, N., Fernández-Patier, R., Gandarillas, A., & Galán, I. (1999). Contaminantes atmosféricos y su vigilancia. Revista Española de Salud Pública, 73(2), 123-132.
- Londoño Franco, L. F., Londoño Muñoz, P. T., & Muñoz García, F. G. (2016). LOS RIESGOS DE LOS METALES PESADOS EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 14(2), 145. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153)
- Snyder, E. G., Watkins, T. H., Solomon, P. A., Thoma, E. D., Williams, R. W., Hagler, G. S., ... & Shelow, D. (2013). The changing paradigm of air pollution monitoring. Environmental Science & Technology, 47(20), 11369-11377.

## IDENTIFICACIÓN DE ENZIMAS DEGRADADORAS DE PET Y SU EXPRESIÓN EN *Pseudomonas sp* (P1)

Ana Sofía, Fierros Peña, Ninfa M., Rosas-García\*

Ninfa María Rosas García 55 57 29 60 00. Ext. 87721 nrosas@ipn.mx.

Palabras clave: Plásticos, PET, Biodegradación, *Pseudomonas*, enzimas.

### Introducción.

Los plásticos son utilizados por sus excelentes propiedades, bajo costo y versatilidad, lo que ha llevado a un aumento de su consumo en las últimas décadas. Sin embargo, la mayor parte del plástico no se biodegrada en ningún sentido significativo; puede existir durante cientos de años y con el paso del tiempo y las condiciones a las que se ven expuestas forman micro plásticos, los cuales afectan a los ecosistemas y a la salud del ser humano (1). Durante el 2021 se registraron a nivel mundial 390.7 millones de toneladas (Mt) de residuos plásticos, de los cuales 21.6 Mt eran tereftalato de polietileno (PET) (2), este se encuentra entre los plásticos de mayor uso a nivel mundial, usado en la producción de botellas, textiles, fibras, láminas, etc. Se han buscado soluciones para disminuir el impacto que generan los residuos de PET como el reciclaje, utilización de envases reutilizables, materiales biodegradables y el uso de la biotecnología, como la utilización de microorganismos con capacidad de degradar este material, bacterias del género *Pseudomonas* spp tienen una amplia gama enzimática lo cual les otorgan características para aplicaciones biotecnológicas, entre ellas la degradación de plásticos como el PET (3).

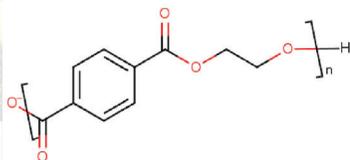


Figura 1. Estructura química del PET.

**Planteamiento del problema.** El tereftalato de polietileno (PET) es uno de los plásticos más usados mundialmente. Sus características hidrofóbicas, aditivos xenobióticos, propiedades mecánicas y fisicoquímicas hacen que éste sea difícil de descomponer, causando contaminación en suelos y océanos, afectando fauna y flora en los ecosistemas, además, se ha relacionado la presencia de micro plásticos con enfermedades como cáncer, por lo que la biodegradación con microorganismos es una alternativa innovadora.

**Justificación.** El reciclaje enzimático se ha propuesto como una alternativa amigable al ambiente para hidrolizar polímeros sintéticos, enzimas como: cutinasas, esterasas, PETasas, MHETasas y BHETasas entre otras, reportadas en aislados de *Bacillus* sp., *Thermobifida fusca*, *S. pavanii*, *I. sakaiensis* y *Pseudomonas* spp, han mostrado tener potencial significativo para degradar plásticos, lo que resulta prometedor para la degradación del PET.

**Objetivo general.** Analizar de manera bioquímica y molecular la expresión de enzimas degradadoras de PET en la bacteria *Pseudomonas sp* (P1) al ser expuesta al PET como sustrato.

**Objetivos particulares.** Determinar la actividad enzimática en *Pseudomonas sp* (P1) que está asociada a la degradación del PET y medir los niveles de expresión de los genes asociados a la actividad enzimática durante la degradación del PET.

**Estrategia metodológica.** Se analizará el genoma de *Pseudomonas sp* (P1) para determinar los genes hipotéticos que codifican para enzimas degradadoras de PET. Se realizarán pruebas bioquímicas para determinar la actividad enzimática para establecer su participación real en el proceso de degradación del PET. Se realizarán pruebas de expresión de los genes asociados a la degradación del PET para determinar su funcionalidad (4).



Figura 2. Diagrama general para identificar enzimas degradadoras de PET en *Pseudomonas sp* (P1)

**Resultados esperados.** *Pseudomonas sp* (P1) exprese los genes de enzimas nuevas o reportadas en otras especies de *Pseudomonas* spp, así como en otros géneros bacterianos y fúngicos relacionados con la capacidad de degradación de tereftalato de polietileno.

### Referencias.

1. Cai, Z., Li, M., Zhu, Z., Wang, X., Huang, Y., Li, T., Yan, M. (2023). Biological Degradation of Plastics and Microplastics: A Recent Perspective on Associated Mechanisms and Influencing Factors. 11(7), 1661.
2. Rima, F.J.G.S. Setting the facts straight on plastics. Available online: <https://www.weforum.org/agenda/2019/10/plastics-what-are-they-explainer/> (accessed on 26 septiembre 2023).
3. Morgan, V., Gayle, C., Cameron, R., Natasja, A. S., & Jay, L. M. (2019). *Pseudomonas*; isolates degrade and form biofilms on polyethylene terephthalate (PET) plastic. bioRxiv, 647321. doi:10.1101/647321
4. Al Makishah, N. H., & Elfarash, A. E. (2022). Molecular characterization of cellulase genes in *Pseudomonas stutzeri*. Electronic Journal of Biotechnology, 59, 55-61.

## DIRECCIONAMIENTO DEL METABOLISMO DE *Leclercia adecarboxylata* HACIA LA SOBREPRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTES

David Israel Ríos Vázquez, Diana Verónica Cortés Espinosa\*.  
Dra. Diana Verónica Cortés Espinosa. E-mail: [dcortes@jpn.mx](mailto:dcortes@jpn.mx); Tel: 2225506071.

Palabras clave: Biosurfactantes, producción industrial, metabolitos secundarios, técnicas moleculares.

**Introducción.** Los biosurfactantes son moléculas anfifílicas producidas por microorganismos que habitan ambientes contaminados por hidrocarburos con el fin de aumentar la biodisponibilidad de los alcanos hidrofóbicos y utilizarlos como fuentes de carbono (1); los biosurfactantes son ampliamente utilizados en la industria farmacéutica, cosmética, petrolera, alimenticia y en procesos de biorremediación debido a su acción dispersante, emulsificante y superficial, además de ser no tóxicos, biodegradables y biocompatibles (2). Una de las estrategias utilizadas últimamente es el uso de técnicas moleculares para inducir el aumento de la producción de biosurfactantes por parte de microorganismos productores de estos metabolitos (3). El presente estudio pretende modificar a *L. adecarboxylata* mediante la sobreexpresión y/o represión de genes en búsqueda de aumentar el rendimiento de producción de ramnolipidos mediante técnicas de biología molecular.

Cuadro 1. Genes involucrados en la producción de ramnolipidos en *L. adecarboxylata* (4).

Gen	Enzima	Función
<i>rhlA</i>	Acetiltransferasa	Formación de 3-(3-hidroxiacilcanoil) ácido alcanóico
<i>rhlB</i>	Ramnolil-transferasa I	Adición de una molécula de ramnosa
<i>rhlC</i>	Ramnolil-transferasa II	Adición de una segunda molécula de ramnosa



Figura 1. Imagen microscópica de *L. adecarboxylata*.

XXXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

**Planteamiento del problema.** Los surfactantes sintéticos son ampliamente utilizados en la industria debido a su capacidad de disminuir las tensiones superficiales, sin embargo, son tóxicos y no biodegradables, por lo que suponen un riesgo ambiental y de salud, es por esto que los biosurfactantes producidos por microorganismos han ganado terreno en la industria al no ser tóxicos y ser biodegradables; es por esto que es importante plantear estrategias para aumentar la producción de biosurfactantes y así satisfacer las necesidades en la industria. El presente trabajo plantea el direccionamiento metabólico de *L. adecarboxylata* hacia la sobreproducción de ramnolipidos mediante técnicas de biología molecular.

**Justificación.** El uso de sistemas promotores inducibles permite el control del rendimiento de producción lo cual es de gran importancia para la industria debido a que es posible generar una mayor cantidad del producto en cuestión en menor tiempo; los biosurfactantes son cada vez más solicitados en la industria debido a su baja o nula toxicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad, lo que los hace amigables con el ambiente y por lo tanto, una mejor alternativa que los surfactantes sintéticos los cuales son persistentes en el ambiente y tóxicos. El direccionamiento genético y metabólico hacia el aumento de la producción de biosurfactantes por parte de una cepa de *L. adecarboxylata* aislada de suelo contaminado por hidrocarburos y previamente seleccionada por su capacidad de producción de este tipo de metabolitos secundarios de los cuales ya se ha comprobado su eficiencia como agentes dispersantes y emulsificantes permitirá un mejor rendimiento de producción, acortar tiempos de producción y disminuir costos con el fin de integrar a estos biosurfactantes en procesos industriales. De esta manera la biotecnología ofrece las herramientas para reemplazar a los surfactantes sintéticos los cuales son tóxicos y no biodegradables por biosurfactantes amigables con el ambiente y con la misma o mayor efectividad que sus contrapartes sintéticas.

**Objetivo general.** Inducir el aumento del rendimiento de la producción de biosurfactantes de tipo ramnolipido por parte de *Leclercia adecarboxylata* mediante técnicas de biología molecular.

### Objetivos particulares.

- Evaluar distintos componentes para establecer la condición de cultivo que permita la mayor producción de biosurfactantes por parte de *L. adecarboxylata*.
- Detectar a los ramnolipidos producidos por *L. adecarboxylata* mediante técnicas analíticas.

- Modificar genéticamente a *L. adecarboxylata* para aumentar la producción de ramnolipidos mediante la sobreexpresión y/o delección de genes.
- Escalar la producción de biosurfactantes mediante pruebas piloto a nivel biorreactor.

### Estrategia metodológica.

**Etapa 1: Selección del medio de cultivo óptimo para la producción de biosurfactantes:** Se evaluarán distintas condiciones para la producción de BS's tanto en cultivo sólido como en líquido, utilizando como unidades experimentales matraces que contendrán distintos medios, se evaluarán distintas fuentes de carbono, nitrógeno, relación C/N y minerales; las variables respuesta serán la emulsificación y dispersión de contaminantes hidrofóbicos las cuales serán determinadas mediante pruebas de emulsificación E<sub>24</sub> y desplazamiento de aceite respectivamente; posteriormente se realizarán cinéticas de crecimiento en donde se tomará una muestra del cultivo cada 24 h y las variables respuesta serán la emulsificación y dispersión de contaminantes hidrofóbicos, el cambio del pH en el medio y crecimiento bacteriano. Además, se llevará a cabo la extracción y purificación de los biosurfactantes producidos para su cuantificación mediante GC-MS.

**Etapa 2: Modificación genética de *L. adecarboxylata* hacia el aumento de la producción de ramnolipidos:** Se llevará a cabo la sobreexpresión de genes involucrados en la biosíntesis de ramnolipidos y la represión de genes que inhiban la producción de biosurfactantes con el fin de aumentar el rendimiento de producción de estos metabolitos por parte de *L. adecarboxylata*. Los genes que serán sobreexpresados son *rhlA* y *rhlB*, esto mediante la sobreexpresión del operon *rhlAB*, además es posible controlar la cantidad de di-ramnolipidos producidos modulando la presencia del gen *rhlC*, además se llevará a cabo la delección del gen *phaC* cuya ausencia ha demostrado mejorar la producción de ramnolipidos. Se llevarán a cabo pruebas de producción de biosurfactantes por la bacteria mutada siendo las variables respuesta la emulsificación y dispersión de contaminantes hidrofóbicos, así como la cuantificación de ramnolipidos por GC-MS.

**Etapa 3: Escalamiento de la producción de biosurfactantes a nivel biorreactor:** Se llevará a cabo la incorporación de la cepa de *L. adecarboxylata* mutada a un sistema de cultivo en lote utilizando un biorreactor para la producción a gran escala de ramnolipidos, las condiciones de cultivo serán las determinadas en la etapa 1, se realizará el control de la temperatura, agitación y el flujo de aire; las variables respuesta serán la emulsificación y dispersión de contaminantes hidrofóbicos, así como la actividad superficial y el crecimiento bacteriano.

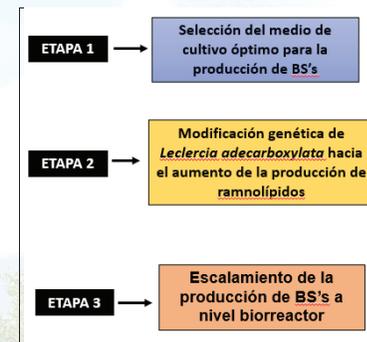


Figura 2. Diagrama de la estrategia metodológica

**Resultados esperados.** Se espera mejorar la producción de ramnolipidos por parte de *L. adecarboxylata* al encontrar el medio con los nutrientes y condiciones óptimas para este fin y comprobar la presencia de ramnolipidos, posteriormente se espera observar un aumento considerable en la producción tras la sobreexpresión de los genes *rhlA*, *rhlB* y *rhlC* y finalmente se espera lograr trasladar esto a nivel de biorreactor al realizar pruebas piloto que nos ayuden a demostrar la efectividad de las técnicas utilizadas a lo largo de este proyecto.

### Referencias.

1. Chowdhury, S., Shrivastava, S., Kakati, A., & Sangwai, J. S. (2022). Comprehensive Review on the Role of Surfactants in the Chemical Enhanced Oil Recovery Process. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 61(1), 21–64. [https://doi.org/10.1021/ACS.IECR.1C03301/ASSET/IMAGES/EDUIUMIE1C03301\\_0041.GIF](https://doi.org/10.1021/ACS.IECR.1C03301/ASSET/IMAGES/EDUIUMIE1C03301_0041.GIF)
2. Mandalenaki, A., Kalogerakis, N., & Antoniou, E. (2021). Production of High Purity Biosurfactants Using Heavy Oil Residues as Carbon Source. *Energies* 2021, Vol. 14, Page 3557, 14(12), 3557. <https://doi.org/10.3390/EN14123557>
3. Thakur, P., Saini, N. K., Thakur, V. K., Gupta, V. K., Saini, R. V., & Saini, A. K. (2021). Rhannolipid the Glycolipid Biosurfactant: Emerging trends and promising strategies in the field of biotechnology and biomedicine. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12934-020-01497-9/FIGURES/5>
4. Wittgens, A., & Rosenau, F. (2020). Heterologous Rhannolipid Biosynthesis: Advantages, Challenges, and the Opportunity to Produce Tailor-Made Rhannolipids. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 22.

XXXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

## PRODUCCIÓN DE FITORREGULADORES A PARTIR DE ESTIÉRCOLES BOVINOS Y PORCINOS MEDIANTE DIGESTIONES ANAEROBIAS

Andrés Castro-Sierra, María Myrna Solís-Oba\*, Teodoro Espinosa-Solares, Eric Houbron, Angélica Romero-Rodríguez, Ana Rosa Sánchez-Camarillo.

\*Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, 2461105734, msolis@ipn.mx

Palabras clave: Desarrollo sostenible, ácido indolacético, ácido giberélico, kinetina, biogás.

### Introducción.

Los fitorreguladores son moléculas orgánicas producidas por plantas para regular sus procesos fisiológicos; tales como la germinación, crecimiento, floración, formación de frutos, respuesta a tropismos, condiciones de estrés, entre otros. Estas importantes moléculas generalmente se producen en sistemas aeróbicos alimentados con sustratos puros, con alta eficiencia de producción, pero a un costo elevado [1]. Lo anterior lo vuelve inasequible para algunos sectores, por lo que han planteado nuevas rutas de producción, entre las que recientemente destaca la digestión anaerobia (DA). Dado que existe limitada información sobre las condiciones óptimas de operación para beneficiar la producción de los fitorreguladores [2]. El objetivo del presente fue evaluar la producción de fitorreguladores mediante DA de estiércol de vaca, de cerdo y la mezcla de ambos.

### Metodología.

Se utilizaron estiércoles bovinos (22.41 % de materia seca; pH 8.02), porcinos (29.09 % de materia seca; pH 6.15) y su mezcla 50:50 (25.75 % de materia seca; pH 6.83). Se realizaron 3 digestiones anaerobias: B (100 % estiércol bovino), P (100 % estiércol porcino) y M (mezcla de estiércoles 50:50) por triplicado, bajo un diseño completamente al azar. En frascos serológicos de 120 mL se colocaron 80 mL de muestra al 5 % de sólidos base seca fueron cerrados herméticamente, e incubados a 30°C. Se tomaron muestras destructivas cada 4 días hasta el día 32, para cuantificación de ácido indoleacético (IAA), ácido giberélico (AG), kinetina (K) y pH.

### Determinación de la producción de biogás y metano

Se cuantificó la producción de biogás por desplazamiento de agua en probetas invertidas empleando la ecuación de gases ideales para obtener los datos en condiciones normales de presión (1 atm) y temperatura (25 °C). Para cuantificar la producción de metano (CH<sub>4</sub>) se colocó una trampa de CO<sub>2</sub> con una solución acuosa de NaOH 3 N. Al inicio (día 0) y final (día 32) se determinaron la DQO, nitrógeno total, fósforo total y potasio.

### Determinación de la producción de fitorreguladores

Para la extracción de fitorreguladores (kinetina, ácidos indolacético y giberélico) se centrifugó el digestato a 9000 rpm por 10 min a 20°C, se ajustó el pH del sobrenadante a 9 con NaOH 1 N y se adicionó acetato de etilo en relación 1:1. Posteriormente, se recuperó la fase orgánica, misma que se evaporó a temperatura ambiente, para después resuspendarla en una mezcla metanol/agua (1:1) acidulada con ácido acético al 0.2 % de acuerdo con Castro-Ramos et al. [3]. La identificación de los fitorreguladores se realizó en un HPLC/UV-VIS equipado con una columna C18, empleando un flujo 0.5 mL/min por 8 minutos, a dos longitudes de onda 280 nm (ácido indolacético) y 265 nm (ácido giberélico y kinetina) en un flujo isocrático empleando

50 % de metanol-agua con 0.2 % de ácido acético, metanol 35 % y agua 15 %, con un volumen de inyección de 20 µL y una temperatura de 20 °C. La cuantificación de los fitorreguladores se llevó a cabo por medio de curvas de calibración.

### Análisis estadísticos

Se hicieron ANOVAS de una vía y la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) con el software estadístico ORIGIN 2021.

### Resultados y discusiones.

La DQO presentó una disminución considerable en cada una de las digestiones: B del 26.69 % (73.92 ± 19.68 kg/m<sup>3</sup> a 53.99 ± 6.58 kg/m<sup>3</sup>); P del 13.11 % (52.39 ± 19.54 kg/m<sup>3</sup> a 45.52 ± 2.54 kg/m<sup>3</sup>); M del 12.66 % (71.06 ± 4.66 kg/m<sup>3</sup> a 62.06 ± 18.43 kg/m<sup>3</sup>), lo cual demuestra que hubo un consumo de materia orgánica producto de la actividad microbiana presente en las digestiones anaerobias [4]. La mayor remoción de este parámetro se determinó en la digestión con estiércol bovino (B). El análisis del consumo de nitrógeno total, fósforo total y potasio se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Análisis NPK de las digestiones evaluadas.

Digestión	Nitrógeno total		
	Inicio [kg/m <sup>3</sup> ]	Final [kg/m <sup>3</sup> ]	Consumo [%]
B	7.10 ± 0.12	0.25 ± 0.11	96.48
P	7.13 ± 0.14	0.70 ± 0.00	90.19
M	7.33 ± 0.08	0.55 ± 0.04	92.50
Digestión	Fósforo total		
	Inicio [kg/m <sup>3</sup> ]	Final [kg/m <sup>3</sup> ]	Consumo [%]
B	1.10 ± 0.00	0.28 ± 0.03	74.92
P	2.49 ± 0.05	0.85 ± 0.08	66.06
M	1.53 ± 0.02	0.92 ± 0.02	40.33
Digestión	Potasio		
	Inicio [kg/m <sup>3</sup> ]	Final [kg/m <sup>3</sup> ]	Consumo [%]
B	0.38 ± 0.04	0.13 ± 0.02	67.11
P	0.33 ± 0.07	0.23 ± 0.02	31.82
M	0.34 ± 0.04	0.15 ± 0.04	55.22

Del Cuadro 1 se observa que L inicio el nitrógeno fue el elemento más abundante, seguido del fósforo y potasio. Después de 32 días de digestión, se evidencia que hubo un consumo de todos los nutrientes, pero no de forma proporcional. Cabos et al. [4] reportaron que, aunque el nitrógeno es el más abundante al inicio de la digestión este disminuye en mayor proporción que los otros nutrientes, lo anterior podría indicar la presencia significativa de bacterias nitrificantes. El comportamiento del pH (Figura 1) fue diferente dependiendo del sustrato utilizado, en los tres sustratos, éste disminuyó siendo predominante la etapa de acidogénesis; a los 16

días el pH aumentó en B por las etapas acetogénicas y posiblemente metanogénica [3]. En P hubo aumento del pH hasta el día 28.

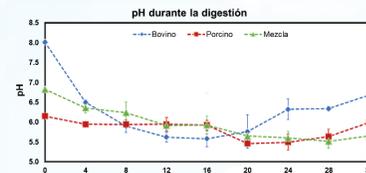


Figura 1. variación del pH durante las digestiones anaerobias.

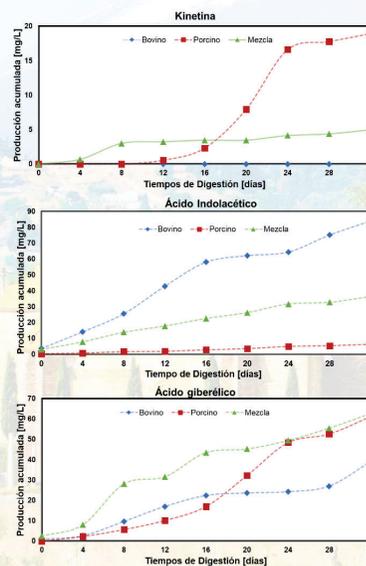


Figura 2. Producción acumulada de fitorreguladores.

### Determinación de la producción de biogás y metano

La mayor producción de biogás ocurrió en las digestiones con estiércol bovino (42 mL), no obstante, la producción de metano fue despreciable (5 % de CH<sub>4</sub>) debido a que no alcanzó el % mínimo para ser considerado un combustible (45 %), lo que se puede explicar por la influencia del pH el cual, por debajo de 6.5, limita el desarrollo y supervivencia de las arqueas metanogénicas [3] y/o del sustrato inicial, puesto que el nitrógeno bajo ciertas condiciones y

concentraciones puede producir amoníaco, lo que puede inhibir la metanogénesis [5].

### Determinación de la producción de fitorreguladores

Se cuantificó la producción acumulada de 3 fitorreguladores (Figura 2): kinetina (K), ácido indolacético (IAA) y ácido giberélico (AG). La mayor producción de K se observó con estiércol porcino entre los días 12 y 24 que coincide con un descenso en el pH, sin embargo, su producción continúa hasta el final de la digestión. Por su parte, el IAA se presentó en todas las digestiones siendo en la de estiércol bovino donde mayor producción hubo, Castro-Ramos et al. [2] mencionaron que la mayor producción la registraron en el día 4 y esta se mantenía para luego disminuir; no obstante, en este caso la producción continuó aumentando conforme avanzaban los días. Finalmente, el AG mantuvo una producción constante durante los 32 días, la mezcla y el estiércol porcino tuvieron la mayor acumulación, aunque fue menor a lo esperado si lo comparamos con lo reportado por Castro-Ramos et al. [2] quien empleó solamente estiércol bovino.

### Conclusiones y perspectivas.

El pH y el sustrato inicial en los distintos tratamientos evaluados no favoreció la producción de metano. Es posible producir fitorreguladores empleando estiércoles, se recomienda el uso de estiércol porcino para producir kinetina y ácido giberélico, bovino para ácido indolacético, y la mezcla como una alternativa para la obtención de los fitorreguladores antes mencionados, no obstante, faltan más estudios para optimizar el proceso.

### Agradecimientos.

A CONAHCYT por la beca otorgada (CVU 966741) y al CIBA-IPN por la financiación y apoyo durante la realización de este proyecto.

### Referencias.

- Shi, T.-Q., Peng, H., Zeng, S.-Y., Ji, R.-Y., Shi, K., Huang, H., y Ji, X.-J. (2017). Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges. *Bioengineered*, 8(2), 124-128.
- Castro-Ramos, J. J., Solís-Oba, A., Solís-Oba, M., Calderón-Vázquez, C. L., Higuera-Rubio, J. M., y Castro-Rivera, R. (2022). Effect of the initial pH on the anaerobic digestion process of dairy cattle manure. *AMB Express*, 12(1), 162.
- Meegoda, J. N., Li, B., Patel, K., y Wang, L. B. (2018). A Review of the Processes, Parameters, and Optimization of Anaerobic Digestion. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10), Article 10.
- Cabos Sánchez, Jeisson, Bardales Vásquez, Cecilia Betzabet, León Torres, Carlos Alberto, y Gil Ramírez, Luis Arturo. (2019). Evaluación de las concentraciones de Nitrógeno, Fósforo y Potasio del biol y biosol obtenidos a partir de estiércol de ganado vacuno en un biodigestor de geomembrana de policloruro de vinilo. *Arnaldoa*, 26(3), 1165-1176.
- Rivas Solano, O., Faith Vargas, M., y Guillén Watson, R. (2010). Biodigestores: Factores químicos, físicos y biológicos relacionados con su productividad. *Revista Tecnología en Marcha*, 23(1), 36-46.

## CRECIMIENTO, CALIDAD Y RENDIMIENTO DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) BAJO DIFERENTES ESQUEMAS DE FERTILIZACIONES ORGÁNICO-MINERAL.

Angélica Romero-Rodríguez, María Myrna Solís Oba\*, José Agustín Pacheco Ortíz, Javier Ruiz Romero.  
Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, IPN, msolis@ipn.mx 2461105734.

Palabras clave: fertilizantes, orgánico-mineral, tomate.

**Introducción.** El tomate es un ingrediente fundamental para la dieta, no sólo por la variedad de platillos que lo requieren, también por los nutrientes que aporta, además de compuestos importantes como los carotenoides, fenoles, ácidos orgánicos, entre otros; al ser la segunda hortaliza más consumida a nivel mundial, asegurar su producción y calidad nutricional es fundamental para los productores y consumidores (1). Hasta ahora los fertilizantes minerales han desempeñado un papel clave para la producción de este fruto; sin embargo, estos tienen un impacto negativo por la contaminación ambiental que generan, los costos que van en aumento y el daño que pueden generar a la salud de los agricultores, por lo que las alternativas actualmente se dirigen a un uso reducido de estos fertilizantes y a su vez, su integración con fertilizantes orgánicos (2,4). Entre los fertilizantes orgánicos se encuentra el digestato y la vermicomposta, dos productos obtenidos a partir de la degradación de residuos orgánicos y que benefician al suelo y al cultivo donde se aplican; los beneficios son la incorporación de macro y micro nutrientes, reguladores de crecimiento, microbiota benéfica, etcétera (3).

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar los parámetros de calidad, rendimiento y crecimiento del tomate saladette, con esquemas de fertilizaciones orgánico-mineral con digestato y vermicomposta.

**Metodología.** Se estableció un cultivo de tomate saladette en invernadero evaluado en 8 tratamientos de fertilización: con vermicomposta (V) o digestato (D), combinados con el fertilizante mineral (FM) recomendado para tomate, todos a diferentes concentraciones (25, 50, 75 y 100%); además de los tratamientos control 100% FM (C+) y sin fertilización (C-). Durante 180 días de cultivo (ddc) se monitoreó semanalmente la altura de la planta, diámetro del tallo, clorofila, número de frutos y rendimiento de cosecha. Posteriormente se analizó la calidad del tomate (grados Brix y acidez titulable). El diseño experimental fue completamente al azar teniendo un total de 40 unidades experimentales, con cuatro repeticiones cada uno.

**Resultados y discusión.** Los resultados de la altura de las plantas de tomate muestran que los tratamientos de fertilización orgánico-mineral no muestran diferencias estadísticas con respecto al C+, sin embargo, hay una notable diferencia entre las alturas con respecto al C- y V100, siendo menores en estos últimos dos tratamientos (Figura 1); la combinación de fertilizantes ayudó al crecimiento de la planta, siendo interesante por la reducción del uso del FM; incluso las alturas de D100 presentaron ser superiores que el C-. Este resultado

coincide con lo reportado por Ye *et al.* (3) en donde se aborda que la integración de nutrientes ayuda al crecimiento de las plantas de tomate.

Por otro lado, la clorofila en hojas nos da una medida indirecta del nitrógeno que contiene la planta, siendo este elemento fundamental para su crecimiento y desarrollo. En los resultados obtenidos se observa que el tratamiento D100 presenta los mayores valores de clorofila en hojas con respecto a los controles y con respecto a los tratamientos V50+FM50 y V100, mostrando igualmente diferencias estadísticas; el resto de los tratamientos orgánico-mineral muestran una cantidad de clorofila mayor que el C- y V100, y a pesar de no presentar diferencias estadísticas, la combinación de D con FM ayudó a tener mayor clorofila que el resto de los tratamientos (Figura 2).

El diámetro del tallo de tomate fue mayor en los tratamientos en donde se aplicó el D, con respecto al resto de los tratamientos, específicamente D100 muestra diferencias estadísticas con respecto al C- y con respecto a los tratamientos en donde se agregó vermicomposta a partir del 50% (Figura 3).

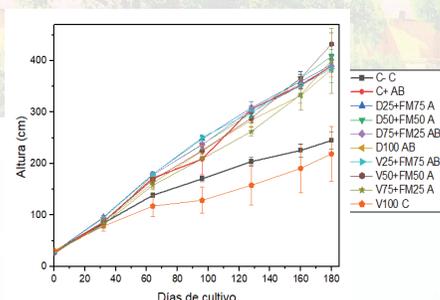


Figura 1. Alturas de *S. lycopersicum* durante los 180 ddc. Se muestran las barras del error estándar para cada punto. Los valores que no comparten una letra común difieren significativamente al nivel del 95%, según la prueba Tukey.

El rendimiento obtenido en los diferentes tratamientos de fertilización muestra que D25+FM75 tuvo la mayor producción, mostrando diferencias estadísticas con respecto al resto de los tratamientos. Es destacable por 10 kg más de producción con respecto al C- y V100. Tanto el D25 como V25 muestran tener altos valores de producción, por lo que se ve reducido en un 25% el uso de FM, este dato es

fundamental para comprobar que, al combinar las fertilizaciones, los rendimientos de un cultivo pueden ser tan buenos como si se usara únicamente el FM (Cuadro 1).

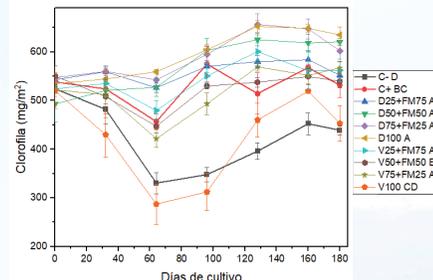


Figura 2. Clorofila en hojas de *S. lycopersicum* durante los 180 ddc. Se muestran las barras del error estándar para cada punto. Los valores que no comparten una letra común difieren significativamente al nivel del 95%, según la prueba Tukey.

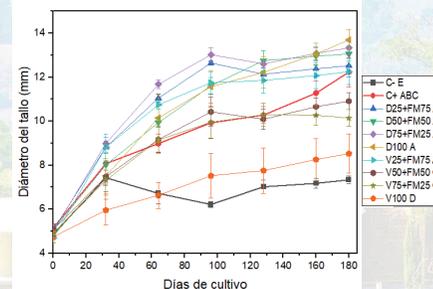


Figura 3. Diámetro del tallo de *S. lycopersicum* durante los 180 ddc. Se muestran las barras del error estándar para cada punto. Los valores que no comparten una letra común difieren significativamente al nivel del 95%, según la prueba Tukey.

Los sólidos solubles expresados en °Brix son parte de la calidad del fruto, importantes para conocer su maduración y sabor. Los tratamientos D100, V25FM75 y V75FM25 presentaron una mayor cantidad de °Brix a comparación del C-; a pesar de no tener diferencias estadísticas, la mayoría de los tratamientos orgánico-mineral mostraron tener una mayor cantidad de °Brix que los tratamientos control (Cuadro 1) Por último, la acidez titulable resultó ser menor estadísticamente en los tratamientos C- y V75FM25, comparada con el resto de los tratamientos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Rendimiento y calidad de *S. lycopersicum* a los 180 días de cultivo.

Treatmento	Rendimiento de frutos (kg)	Sólidos solubles (°Brix)	Acidez titulable (% ácido cítrico)
C-	4.788 E	3.7 B	0.2496 B
C+	13.125 B	3.8 AB	0.3104 A
D25+FM75	14.653 A	3.9 AB	0.2944 A
D50+FM50	12.248 C	3.8 AB	0.304 A
D75+FM25	12.334 C	4 AB	0.2976 A
D100	9.480 D	4.6 A	0.3392 A
V25+FM75	13.608 B	4.3 A	0.2784 AB
V50+FM50	12.876 BC	4 AB	0.2752 AB
V75+FM25	9.350 D	4.4 A	0.256 B
V100	4.032 E	4.1 AB	0.3488 A

Los valores que no comparten una letra común difieren significativamente al nivel del 95%, según la prueba Tukey.

**Conclusiones y perspectivas.** La disminución del FM y su integración con fertilizantes orgánicos como D y V, resulta ser favorable para el crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas de tomate, especialmente el D, que muestra tener un papel importante como fertilizante al usarlo al 100%; esto no ocurre con el uso de V al 100%, debido que en la mayoría de los resultados, tuvo valores similares que los obtenidos con el C-. Las perspectivas del presente trabajo serán enfocadas a la calidad del fruto para conocer las cantidades que presentan de ácidos orgánicos, fenoles y carotenos; así como el análisis del desarrollo de las raíces de las plantas sometidas a los diferentes tratamientos, por último, se hará un análisis del suelo para comprobar si hay cambios antes y después de las fertilizaciones.

### Referencias.

- Islam, M.; Islam, S.; Akter, A.; Rahman, M.; Nandwani, D. 2017. Efecto de los fertilizantes orgánicos e inorgánicos sobre las propiedades del suelo y el crecimiento, rendimiento y calidad del tomate en Mymensingh, Bangladesh. *Agric. 7*(18):1-7.
- Olasekan, A.; Olatunde, S.; Femi, J.; Aremu, A.; Muiyibi, C.; Okunlola, F.; Oyelami, E. 2022. Organic and in-organic fertilizers effects on the performance of tomato (*Solanum lycopersicum*) and cucumber (*Cucumis sativus*) grown on soilless medium. *Sci. Rep.* 12(122): 1-8.
- Sabry, K. 2015. Synthetic Fertilizers; Role and Hazards. *Fert. Technol.* 1(4): 110-133.
- Ye, L.; Zhao, X.; Bao, E.; Li, J.; Zou, Z.; Cao, K. 2020. Bioorganic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and improves tomato yield and quality. *Sci. Rep.* 10 (177): 1-10.

## RESISTOMA Y FILOGENIA DE *Listeria monocytogenes* AISLADA DE ALIMENTOS DE REYNOSA, TAMAULIPAS.

Gabriela Paulina Guel García, Ana Verónica Martínez Vázquez \*

Centro de Biotecnología Genómica. Instituto Politécnico Nacional. México, Tel.: 899 924 8152. \* Autor de correspondencia: avmartnez@ipn.mx

Palabras clave: *Listeria monocytogenes*, resistencia antimicrobiana, virulencia, alimentos.

**Introducción.** *Listeria (L.) monocytogenes* es una bacteria que puede adaptarse fácilmente a su entorno. Así mismo, los serotipos encontrados en >90% de los casos de listeriosis son principalmente IIa, IIb, IVb que, aunados a la presencia de genes de virulencia, que incrementa la posibilidad de colonización de la bacteria en el huésped (3). En el ambiente alimentario se le concede especial atención, dado que puede ocasionar listeriosis, una de las más graves de las enfermedades transmitidas por alimentos, llegando a tener del 20-30% de mortalidad (5). Esta bacteria tiene una prevalencia baja y se puede tratar fácilmente con ampicilina, penicilina, gentamicina, sulfametoxazol / trimetoprima, eritromicina, y vancomicina (1). Sin embargo, en los últimos años se ha encontrado la presencia de cepas con resistencia a estos antibióticos, lo que puede influir en la eficacia del tratamiento del paciente (4). Al mismo tiempo, a nivel nacional y regional de Tamaulipas hay pocos datos sobre *L. monocytogenes*, dado que la listeriosis no es una enfermedad que requiera notificación oficial. Por lo tanto, se desconoce si la bacteria presenta resistencia a antimicrobianos en los alimentos.

Es por tanto que evaluamos la resistencia antimicrobiana de cepas de *L. monocytogenes* en alimentos de Reynosa, Tamaulipas y su correlación con virulencia, diversidad genética y distribución filogenética.

**Metodología.** Se obtuvieron muestras de carne molida, pollo, queso, mariscos, leche pasteurizada y no pasteurizada, sumando un total de 300 muestras. De cada muestra se tomaron 25 g para incubar en agua peptonada a 37°C por 24 h. Posteriormente las muestras fueron incubadas en placas de CHROMagar™ *Listeria* mediante estira cruzada por un periodo de 24-48 h. Las colonias de morfología característica de *Listeria* fueron sembradas individualmente en placas de agar soya triplicaseína para obtener un cultivo puro (Figura 1).

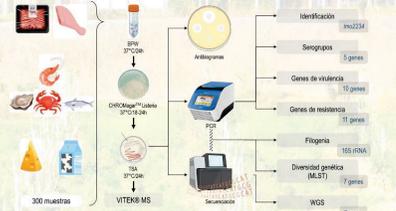


Figura 1. Metodología general para el aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes*, detección de serotipo, factores de virulencia y resistencia a antimicrobianos.

Se identificó la especie *L. monocytogenes* mediante la detección del gen *lmo2234* por PCR y VITEK 2. A las cepas confirmadas como *L. monocytogenes* se les realizó la prueba de difusión en placa de Kirby Bauer para evaluar su susceptibilidad a antibióticos. Se consideró un panel de 12 antibióticos: ampicilina, cloranfenicol, ciprofloxacina, eritromicina, estreptomocina, gentamicina, levofloxacina, meropenem, penicilina, tetraciclina, trimetoprima / sulfametoxazol y vancomicina. La interpretación de resultados se realizó siguiendo los criterios del CLSI y EUCAST.

Con base en el método propuesto por (Douthy y colaboradores (2004), se utilizaron 5 genes para clasificar las cepas en los posibles 4 serogrupos diferentes de acuerdo con su presencia o ausencia. Se evaluó por PCR la presencia de genes asociados a virulencia: *actA*, *hly*, *mpl*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *inlA*, *inlB*, *inlC* y *ilhX*. Asimismo, se realizó la secuenciación del genoma completo de 8 cepas, para la búsqueda de genes de resistencia. Se realizó tipificación multilocus de secuencias (MLST) para su comparación en la base de datos del y filogenia con el fragmento 16S rRNA.

**Resultados y discusión.** Entre las 300 muestras analizadas, solo la carne molida, quesos artesanales, y pollo fueron positivas para *L. monocytogenes* con un promedio de 5.7% (17/300) de prevalencia (Cuadro 1). La mayor prevalencia de *L. monocytogenes* se observó en queso fresco con un 26.6% (8/30). Por el contrario, en las muestras de leche, mariscos y queso procesado no se detectó.

Cuadro 1. Resumen de los resultados obtenidos de serogrupos y genes de virulencia de las cepas, por tipo de muestra. Los porcentajes se clasifican por color, siendo verde 0% y rojo 100%.

Tipo de muestra	Serogrupo (%)	% Genes de virulencia									
		<i>actA</i>	<i>hly</i>	<i>mpl</i>	<i>plcA</i>	<i>plcB</i>	<i>prfA</i>	<i>inlA</i>	<i>inlB</i>	<i>inlC</i>	<i>ilhX</i>
Pollo	IIa (75.0)	33.3	100	66.7	33.3	100	66.7	100	100	66.7	0.0
	IIb (25.0)										
Queso	IVb (100)	94.1	100	0.0	76.5	94.1	0.0	70.6	58.8	58.8	100
Carne molida	IVb (25.0)	100	75.0	62.5	0.0	87.5	62.5	75.0	75.0	75.0	25.0
	IIa (75.0)										

La prevalencia de *L. monocytogenes* puede relacionarse a varios factores, como la composición de los alimentos, tiempos y temperaturas de almacenamiento, así como a la falta de buenas prácticas de manejo (2). De cada muestra positiva, se aisló más de una colonia, sumando en total 38 cepas *L. monocytogenes*.

Se identificaron serogrupos asociados a casos de listeriosis en humanos (3) que incluyeron serogrupo IVb (68.4; 26/38), IIa (23.8%; 9/38) e IIb (9.8%; 3/38).

Los genes de virulencia predominantes incluyeron *actA*, *hly* y *plcB* (35/36; 92.1%), otros genes de virulencia se encontraron en al menos 50% de las cepas, como *plcA*, *plcB*, *inlA*, *inlB*, *inlC* y *IlhX*, mientras que los genes *mpl* y *prfA* se hallaron en una proporción menor (21.1%; 8/36). Estos genes participan en el proceso de invasión a la célula, ruptura de la vacuola fagocítica y liberación de la bacteria hacia el citoplasma o a la célula huésped vecina (2). En el caso del gen *IlhX*, presente en el 68.4% (26/38) de las cepas, es relevante por su asociación con hipervirulencia y brotes de listeriosis; y se encontró únicamente en cepas de serogrupo IVb. Ninguna cepa poseía todos los genes de virulencia analizados. Las características de serogrupos y genes de virulencia de las cepas por tipo de muestra son mostradas en el Cuadro 1.

Todas las cepas fueron susceptibles a ampicilina, cloranfenicol, ciprofloxacina, gentamicina, levofloxacina, penicilina, tetraciclina, vancomicina. Sin embargo, 4 antimicrobianos presentaban resistencia, siendo sulfametoxazol / trimetoprima (STX/TMP) (22/28; 78.5%), estreptomocina (STR) (26.3%, 10/36), meropenem (MEM) (21.1%, 8/38), y eritromicina (ERY) (2.6%, 1/38). De acuerdo con los patrones de resistencia observados (Figura 2), el 21.0% (8/38) fue susceptible a todos los antimicrobianos evaluados, sin embargo 42.1% (16/38) fue resistente a un antimicrobiano, 23.7% (9/38) a dos antimicrobianos y el 13.2% (5/38) a 3 antimicrobianos, los cuales multi-drogo resistentes (MDR), dado a su resistencia de al menos 3 antimicrobianos de 3 diferentes familias. Aunque se ha reportado que *L. monocytogenes* generalmente es susceptible a los antimicrobianos, en los últimos años se ha observado un aumento en las cepas resistentes. Esta resistencia podría complicar el tratamiento efectivo de los pacientes con listeriosis (1).

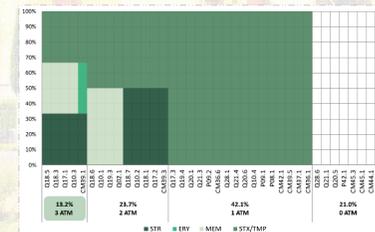


Figura 2. Patrones de resistencia a antimicrobianos y porcentaje de resistencia de cepas de *L. monocytogenes*.

### Conclusiones y perspectivas.

*L. monocytogenes* se ha encontrado en carne molida de supermercados, pollo de supermercados y tiendas locales y quesos artesanales de Reynosa, Tamaulipas. Las cepas obtenidas

presentan serogrupos asociados al 95% de los casos de listeriosis a nivel mundial. Asimismo, se encontraron genes de virulencia que aumentan el riesgo de invasión de *L. monocytogenes*, además de que la mayoría de las cepas presentó el gen *IlhX* asociado a hipervirulencia y brotes de listeriosis en humanos. Se enfatiza la importancia de monitorear el uso de antimicrobianos, dado que se detectó resistencia a medicamentos auxiliares para tratar la listeriosis, incluyendo MEM, usado como tratamiento de último recurso para las infecciones bacterianas. Como parte del plan de trabajo, actualmente se encuentra en proceso la estandarización y análisis de la tipificación multilocus de secuencias, filogenia y secuenciación del genoma completo para la búsqueda de genes de resistencia a antimicrobianos.

**Agradecimientos.** Al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo brindado (SIP 20220267).

A BIFI por la beca para participar en proyectos de investigación. A CONACYT por la beca otorgada para estudios de posgrado.

### Referencias.

- Baquerio, F., F. Lanza, V., Duval, M. and Coque, T. M. 2020. Ecogenetics of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Mol. Microbiol.* 113: 570-579.
- Buchanan, R. L., Gorris, L. G. M., Hayman, M. M., Jackson, T. C. and Whiting, R. C. 2017. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control*. 75: 1-13.
- Douthy, M., Buchrieser, C., Glaser, P., Jacquet, C. and Martin, P. 2004. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 42: 3819-3822.
- Kayode, A. J. and Okoh, A. I. 2022. Assessment of multidrug-resistant *Listeria monocytogenes* in milk and milk product and One Health perspective. *PLoS One*. 17: 1-21.
- Wiktorczyk-Kapischke, N., Skowron, K., Grudlewska-Buda, K., Walecka-Zacharska, E., Korkus, J. and Gospodarek-Komkowska, E. 2021. Adaptive response of *Listeria monocytogenes* to the stress factors in the food processing environment. *Front. Microbiol.* 12: 1-18.

## EFFECTO PROTECTOR DE EXTRACTOS FENÓLICOS DE CÁSCARA DE NUEZ (*Carya illinoensis*) EN PLÁNTULAS DE FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris* L.) SOMETIDAS A ESTRÉS SALINO.

Iliana Ivette Lozano Montelongo, Norma Almaraz Abarca\*

Número telefónico: 6181003554

Fax: 6188142091

Correo electrónico: nalmazar@jpn.mx

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris*, salinización, bioestimulantes, *Carya illinoensis*.

**Introducción.** Las leguminosas (Fabaceae) han sido desde tiempos antiguos una parte esencial de la alimentación humana, siendo junto con los cereales las primeras plantas cultivadas por el hombre. Su mayor relevancia radica en la alimentación (1), ya que poseen importantes tipos y cantidades de nutrientes, así mismo destaca su participación en la salud, la sostenibilidad ambiental y la economía (2). Dentro de la familia Fabaceae se encuentra el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), que es considerado como la leguminosa de consumo humano más importante a nivel mundial. México es reconocido como el centro de origen, de diversidad, y de domesticación de la especie (3). La alta variabilidad genética de *P. vulgaris* representa una fuente excepcional para el fitomejoramiento y el desarrollo continuo de cultivos (4). El frijol común también es considerado un alimento funcional al sintetizar una variedad extensa de compuestos bioactivos, entre los que destacan inhibidores enzimáticos, lectinas, fitatos y compuestos fenólicos (5). *Phaseolus vulgaris* se ha visto afectado por diversos factores abióticos estresantes, siendo la salinidad en los suelos de cultivo uno de los más devastadores, ya que provoca inhibición del crecimiento y desarrollo de las plantas por medio de la generación de estrés hídrico y oxidativo, así como citotoxicidad, conduciendo en algunos casos a la muerte (6). Las plantas para protegerse de los factores estresantes han desarrollado mecanismos químicos y bioquímicos de adaptación (7) para reducir el daño provocado por la salinidad; sin embargo, estos mecanismos pueden no ser suficientes para que la planta pueda crecer y desarrollarse de forma saludable. El reforzamiento exógeno con extractos de plantas, semillas, frutos o incluso de los "desechos" de estos mismos como estimulantes bioactivos puede conferir a las plantas mayor tolerancia al estrés (8). Una estrategia novedosa y fácilmente accesible de compuestos con gran potencial estimulante es el uso de subproductos de desecho de la industria alimentaria, como es el ruzno de la nuez pecanera (*Carya illinoensis*), el cual ha sido reconocido y empleado por grupos de investigación con distintos fines por sus propiedades, principalmente antioxidantes (9,10). El objetivo general del presente estudio es evaluar el efecto protector de extractos fenólicos de cáscara de nuez (*Carya illinoensis*) en plántulas de dos formas silvestres de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) sometidas a estrés salino.

**Metodología.** Objetivo específico #1: Caracterización fenólica de la cáscara de nuez, por un método en gradiente de HPLC-DAD (Campos y Markham, 2007), cuantificación de fenoles totales, flavonoides y taninos por ensayos espectrofotométricos (Singleton et

al., 1999; Salatino y Woisky, 1998; Julkunen-Titto, 1985; Lugasi et al., 2008; Roberta et al., 2008).

Objetivo específico #2: Establecimiento de las unidades experimentales y tratamientos. Registro de caracteres morfológicos (IBPGR, 1982), y fenológicos (Fernández et al., 1986).

Objetivo específico #3: Caracterización de los sistemas químicos, bioquímicos y antioxidantes de plántulas de frijol común, determinando la composición fenólica por un método en gradiente de HPLC-DAD (Campos y Markham, 2007), cuantificación por ensayos espectrofotométricos (Singleton et al., 1999; Salatino y Woisky, 1998; Julkunen-Titto, 1985; Lugasi et al., 2008; Roberta et al., 2008). Determinación de antocianinas totales, por el método de pH diferencial (Giusti y Wrolstad, 2001).

Determinación de clorofila y carotenos, por un método de espectrofotometría (Conesa et al., 2019).

Cuantificación de proteínas solubles (Bradford, 1997).

Contenido de prolina, por un método de espectrofotometría (Sarker y Oba, 2018).

Determinación de iones Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>, por la técnica de microscopía electrónica de barrido-espectroscopía por dispersión de energía de rayos X (SEM-EDS).

Actividades de las enzimas antioxidantes catalasa, superóxido dismutasa, por métodos espectrofotométricos (Sarker y Oba, 2018; Mæhre et al., 2018).

Objetivo específico #4: Evaluación de estabilidad de membranas, por el método de cloruro de trifetil tetrazolio (TTC) (Steponkus y Lanphear, 1967).

Determinación del perfil hormonal, por cromatografía líquida de intercambio iónico y HPLC bidimensional (Dobrev et al., 2005).

Producción de radicales libres, por métodos espectrofotométricos (Sergiev et al., 1997; Brand-Williams et al., 1994; Lugasi et al., 2008; Roberta et al., 2008).

Daño en lípidos de membrana, por un método espectrométrico (Campos, 1997).

Objetivo específico #5: Estatus epigenético, por determinación de los niveles de metilación con el método MSAP (Lira et al., 2017).

Objetivo específico #6: Análisis estadístico por medio de ANOVA con discriminación de medias, análisis de correlaciones, análisis multivariado de componentes principales y de agrupamiento.

**Resultados y discusión.** De acuerdo a los resultados de HPLC-DAD, el ruzno de la nuez pecanera analizada acumula 10 compuestos fenólicos predominantes, destacando derivados de flavonas, flavonoles, e isoflavonas.

Los resultados de los análisis espectrométricos revelaron una concentración de fenoles totales de 50.96 mg/g siendo los taninos los compuestos fenólicos predominantes, con 20.31 mg/g de extracto de ruzno, por su parte la concentración de flavonoides totales fue de 6.58 mg/g de extracto de ruzno. Los ensayos para evaluar la capacidad antioxidante mostraron un valor de EC<sub>50</sub>DPPH<sup>•</sup>=2.5 mg/ml de extracto de ruzno seco, y una EC<sub>50</sub>ABTS<sup>•+</sup>=3.0 mg/ml respectivamente

**Conclusiones:** Se identificaron 10 compuestos fenólicos mayoritarios en el extracto de ruzno de nuez pecanera resaltando la presencia de algunos derivados de flavonas, flavonoides e isoflavonas, así mismo la cuantificación reveló que los taninos fueron los compuestos fenólicos más abundantes seguido por los flavonoides, así mismo los extractos tuvieron una mayor capacidad de bloqueo DPPH<sup>•</sup> (EC<sub>50</sub> 2.5 mg/ml) que del radical ABTS (EC<sub>50</sub> 3.0 mg/ml).

Estos resultados destacan al ruzno de nuez como fuente importante de compuestos fenólicos.

**Perspectivas:** Obtener Información sistematizada sobre los mecanismos de defensa contra estrés salino de plántulas de *P. vulgaris*, sobre el efecto protector de extractos fenólicos de *C. illinoensis* en las mismas, la publicación de al menos un artículo científico, y la participación en congresos nacionales e internacionales.

### Referencias.

- Bitocchi E, Rau D, Bellucci E, Rodriguez M, Murgia ML, Gioia T, Santo D, Nanni L, Attene G, Papa R. 2017. Beans (*Phaseolus* spp.) as a model for understanding crop evolution. *Frontiers in Plant Science*.
- Cokkizgin A. 2012. Salinity Stress in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seed Germination. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*
- Du Jardin P. 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*.
- De la Rosa L, Álvarez Parrilla E, García Fajardo J. 2019. Identificación de compuestos fenólicos en extractos de almendra (*Prunus dulcis*) y nuez pecana (*Carya illinoensis*) mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS). *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*.

## EFFECTO DE LA APLICACIÓN FOLIAR DE UN FERTILIZANTE ORGANOMINERAL CON DIGESTATO SOBRE LA RIZOSFERA, EL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE *Lolium perenne* L.

Karim Hassam Montalvo Aguilar, Rigoberto Castro Rivera\*, Carlos Ligne Calderón Vázquez<sup>2\*</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, Carretera Estatal Santa Inés Tecuexcomac-Tepetitla km 1.5, Tepetitla de Lardizábal, CP 90700 Tlaxcala, México. Tel.: 246 111 2696 E-mail: rigocastro4@hotmail.com.

<sup>2</sup> Departamento de Biotecnología Agrícola, CIDIIR-IPN, Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional, Boulevard Juan de Dios Bátiz Paredes #250, Colonia San Joachin, CP 81101 Guasave, Sinaloa, México.

Palabras clave: fertilizante organomineral, digestato, forrajes, rendimiento, *L. perenne* L., foliar.

**Introducción.** El manejo, utilización y aprovechamiento de cultivos forrajeros requiere del conocimiento, estudios de adaptación, comportamiento, manejos técnicos y agronómicos, distribución estacional del rendimiento, fertilización y la respuesta a la defoliación de la especie a cultivar o producir. El ballico perenne (*Lolium perenne* L.) es muy utilizado en sistemas de producción animal ya sea por corte o en pastoreo por su alta apetencia, digestibilidad, rendimiento, rápido establecimiento y sobre todo su valor nutritivo (3).

En la mayoría de los sistemas agrícolas, la fertilización se realiza directamente al suelo y ésta depende de la capacidad de la planta para movilizar los nutrientes desde el sustrato, así como, las condiciones del suelo y de la forma de presentación de la fuente mineral. La fertilización foliar corrige rápidamente las deficiencias nutricionales y estimula a que la planta alcance niveles altos de producción, así mismo, suplementa a la planta de nutrientes que no pueden obtener mediante la fertilización en suelo (4).

La digestión anaeróbica convierte la materia prima en biogás y digestato, que puede ser utilizado como mejorador del suelo ya que contiene cantidades considerables de nutrientes esenciales, fitoreguladores y sustancias húmicas (SH). El digestato debe aplicarse a tasas específicas y en el momento adecuado, además, es muy importante elegir el mejor método para su aplicación, así mismo, por su asequibilidad técnica y económica (1).

La aplicación foliar de Urea y SH mejora la asimilación del N y la respuesta es más rápida en las plantas (2). La conversión de urea en amonio (NH<sup>+</sup>) por la actividad de la enzima ureasa presente en las SH del digestato, mejoran la entrada de amonio en las hojas. La combinación adecuada de fertilizantes orgánicos con minerales es fundamental para reducir la sobreutilización de los insumos, minimizar impactos ambientales y mejorar el rendimiento de los cultivos, lo que tiene ventajas económicas y ambientales (5).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación foliar de un fertilizante organomineral con digestato sobre las variables del rendimiento en *Lolium perenne* L.

**Metodología.** El estudio se llevó a cabo en un túnel de plástico, donde se tenían establecidos dos cultivos de ballico perenne de diferente edad, en ambos cultivos se utilizó el mismo sustrato (suelo de CIBA), las unidades experimentales fueron macetas de plástico de 1.5 kg.

El diseño experimental fue completamente azar con arreglo factorial 3x3x2, considerando los factores: Concentración de urea en digestato (75, 50 y 25%), Aplicación de urea en suelo (75, 50 y 25% de la recomendación para el cultivo), Edad del pasto (5 y 2 años). El pasto de 2 años cuenta con dos concentraciones extra de digestato (10 y 100%) dando un total de 15 tratamientos, para el pasto de 5 años 9 tratamientos, ambos con 6 repeticiones y tres testigos: un control orgánico foliar (100% de digestato con urea 1:1), un testigo absoluto (solo riego) y un control mineral al suelo (Urea 50kg N/ha). La frecuencia de cosecha fue cada 30 días, la fertilización con urea se aplicó a la semana después del corte y el digestato se aplicó a las 2 semanas después del corte.

Las variables evaluadas fueron altura de la planta (cm), materia seca (MS g/maceta), densidad de plantas por m<sup>2</sup>, no. de tallos por macollo y peso promedio del tallo (PPT mg).

**Resultados y discusión.** Los resultados derivados del análisis factorial, evidenciaron que al cabo de un año de evaluación (Cuadro 1), la mayor altura se obtuvo en el pasto de dos años, siendo un 15% mayor que el pasto de 5 años (2018). Gaytán-Valencia, et al., 2019, reportaron que las praderas de mayor edad de haber sido establecidas reducen su vigor y por lo tanto la altura del dosel, siendo similar el efecto que se observa en estos resultados.

Las concentraciones de fertilización foliar con digestato-Urea al 75% y 50% superaron (P<0.05) un 13.5 - 8.8% la altura de los cultivos con una fertilización convencional directamente al suelo, que representa el control positivo (50kg N/ha), además, estas mismas concentraciones supera un 77.9 - 85.5% la altura de los cultivos sin fertilización, lo que resalta la bondad de la fertilización mixta vía foliar en el desempeño productivo. En cuando a la fertilización mineral, se observa que el efecto de la fertilización foliar influyó en los resultados estadísticos de la fertilización mineral al suelo, elevando la respuesta de la altura a las concentraciones de 75 y 50% mayor que el 100% que lleva el control positivo.

El factor edad no registró efecto (P<0.05) sobre las variables de densidad de tallos por macollo y densidad de plantas por m<sup>2</sup>, esto presenta una relación positiva debido a que el diámetro del macollo está directamente influenciado por el número de tallos por macollo. Sin embargo, todas las concentraciones de fertilización foliar con digestato-urea superaron un 19 - 36% la densidad de tallos por

macollo con respecto al testigo. La fertilización mineral igual tuvo efecto sobre la densidad de tallos por macollo, superando al control positivo, atribuyendo este resultado a la influencia de la fertilización foliar.

La aplicación foliar de la combinación de fertilizantes promueve una mayor formación de tallos en las plantas o macollos incrementando el tamaño de estos, lo que repercute en el rendimiento de materia seca., esto demuestra una relación inversamente proporcional entre la densidad de tallos por macollo y la densidad de plantas por m<sup>2</sup>. En el factor fertilización mineral se observa que conforme se incrementa 25 puntos porcentuales la densidad de plantas se reduce un 33-10% la densidad de plantas por m<sup>2</sup>. Saldanha, et al., 2010, obtuvieron una densidad de plantas en promedio de 634 plantas/m<sup>2</sup> superando 446% el más alto en este trabajo, pero con una densidad de tallos de 20-30 por macollo, representando el 12-25% de lo obtenido en este trabajo. Sin embargo, también han reportado densidades de plantas de 170 plantas con un mayor número de macollos, a lo que ellos nombran a este efecto, un mecanismo de compensación por superficie y manejo.

Cuadro 1. Variables evaluadas en *Lolium perenne* L. a diferentes concentraciones de digestato-Urea, fertilización mineral con urea y tiempo de establecimiento en un año de evaluación.

FACTOR	Altura (cm)	Tallos por macollo	Densidad de plantas	Materia Seca (g)	PPT (mg)
<b>EDAD DEL PASO: ESTABLECIMIENTO</b>					
2 años	24.8 a	206 a	83 a	62.2 a	26.2 b
5 años	20.9 b	205 a	84 a	61.3 a	27.2 a
<b>FERTILIZACIÓN FOLIAR CON DIGESTATO-UREA</b>					
C +	23.7 b	190 c	68 c	60.6 c	27.4 c
75%	26.9 a	259 a	74 bc	89.5 a	33.1 a
50%	25.8 a	234 b	80 b	76.1 b	31.6 b
25%	23.5 b	227 b	81 b	60.5 c	25.3 d
C -	14.5 c	116 d	116 a	22.1 d	16.1 e
<b>FERTILIZACIÓN MINERAL (UREA)</b>					
C +	23.7 b	190 c	68 c	60.6 c	27.4 c
75%	27.3 a	245 a	75 c	86.1 a	32.6 a
50%	26.1 a	232 b	73 c	75.7 b	30.3 b
25%	22.7 b	243 ab	87 b	64.3 c	27.0 c
C -	14.5 c	116 d	116 a	22.1 d	16.1 d

Con respecto al rendimiento de forraje no se registró diferencia (P>0.05) por la edad de la planta, sin embargo, las concentraciones del 75 y 50% de fertilización digestato-urea superaron un 25 - 47% al rendimiento del control positivo y hasta el 244 - 304% al cultivo testigo Saldanha, et al., 2010, obtuvieron un PPT de 43.2 mg, siendo un 30% más alto que el mayor obtenido en este trabajo, sin embargo, esto se debe a que ellos dejaron crecer por más tiempo la planta

antes del corte y cortaron a mayores alturas (7-9.5cm) que en este trabajo (5cm), afectando el peso del tallo.

El análisis factorial registró diferencia en el PPT indicando que los tallos del pasto joven son más delgados y menos pesados que los tallos del pasto viejo, esto puede ser comprobado con un análisis en los componentes de lignina, celulosa y hemicelulosa de la pared celular. En los factores de fertilización con digestato-urea y mineral, se observa que a mayor concentración de nutrientes los tallos son más pesados y a menor concentración son más ligeros.

**Conclusiones y perspectivas.** Las concentraciones de 75 y 50% de fertilización foliar con digestato-urea tuvo un efecto positivo en las variables altura, tallos, densidad de plantas y PPT evaluadas durante un año, siendo superior a los testigos, lo que indica que se puede reducir en un 25 o 50% el uso de fertilizantes nitrogenados en el suelo.

Fertilizar digestato y urea de forma foliar, mejora el comportamiento del pasto, pero falta analizar el efecto en las biomoléculas de calidad, el suelo y los microorganismos de la rizosfera.

**Agradecimientos.** Se agradece infinitamente a CONACyT y a CIBA-IPN, ya que hacen que este proyecto se lleve a cabo.

### Referencias.

- Jurgutis, L. et al., 2021. The effect of digestate fertilisation on grass biogas yield and soil properties in field-biomass-biogas-field renewable energy production approach in Lithuania. *Biomass and Bioenergy*, Volume (153), pp. 1-10.
- Leite, J. M. et al., 2020. Co-addition of humic substances and humic acids with urea enhances foliar nitrogen use efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Heliyon*, Volume (6), pp. 1-8.
- Montalvo-Aguilar, K. H. et al., 2018. EFECTO DE LA FRECUENCIA DE DEFOLIACIÓN Y LA FERTILIZACIÓN CON DIGESTATO EN LOS COMPONENTES DEL RENDIMIENTO DE BALLICO PERENNE (*Lolium perenne* L.). *Agroproductividad*, 11(5), pp. 3-9.
- Munillo-Castillo, R. G., Piedra-Marín, G. & León, R. G., 2013. ABSORCIÓN DE NUTRIENTES A TRAVÉS DE LA HOJA. *Uniciencia*, 27(1), pp. 232-244.
- Pawlett, M., Deeks, L. K. & Sakrabani, R., 2015. Nutrient potencial of biosolids and urea derived organo-mineral fertilisers in a field scale experiment using rygrass (*Lolium perenne* L.). *Field Crops Research*, Volume (175), pp. 56-63.
- Saldanha, S., Boggiano, P. & Cadenazzi, M., 2010. Intensidad del pastoreo sobre la estructura de una pastura de *Lolium perenne* cv Horizon. *Agrociencia*, XIV(1), pp. 44-54.

## CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLÓGICA, DIVERSIDAD GENÉTICA Y RESPUESTA AL ESTRÉS ABIÓTICO DE CINCO ESPECIES SILVESTRES DE FRIJOL DEL ESTADO DE DURANGO.

Denisse Téllez Mazzocco, Yolanda Herrera Arrieta\*, Miguel M. Correa Ramirez, Marlon Rojas López y Kalina Bermúdez Torres.

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango del Instituto Politécnico Nacional, Sigma 119. Fracc. 20 de Noviembre II. Durango, Durango. 34200. Tel/Fax 6188142091. Correo electrónico: yherrera@ipn.mx

Palabras clave: *Phaseolus*, silvestre, caracterización, rbcL, ITS.

**Introducción.** El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) pertenece a la familia Fabaceae y es una de las leguminosas de mayor consumo en el mundo. De acuerdo con estudios taxonómicos y filogenéticos se consideran actualmente 52 especies del género *Phaseolus* para México, 31 de éstas son endémicas al territorio mexicano (1) siendo los estados de Durango, Jalisco y Oaxaca los que presentan una mayor diversidad de especies. La diversidad genética existente en las poblaciones silvestres del frijol constituye un recurso importante para el fitomejoramiento, ya que dichas poblaciones albergan genes asociados con la tolerancia a diversos estreses abióticos (sequía, calor) y bióticos (enfermedades y plagas). La caracterización agronómica, genética y respuesta a estrés abiótico mediante la utilización de diversas herramientas permite la identificación de cultivos con características deseables, análisis de la diversidad genética y su asociación con caracteres agronómicos, gestión de bancos de germoplasma y programas de mejoramiento. El objetivo general de dicho trabajo consiste en caracterizar morfológica, genéticamente y la respuesta a estrés abiótico de cinco especies silvestres de frijol del Estado de Durango. En este trabajo se presentan los avances obtenidos en el análisis de la caracterización genética.



*P. vulgaris* *P. coccineus* *P. leptostachyus* *P. microcarpus* *P. acutifolius*

Figura 1. Flores, forma y color de vainas y semillas de las cinco especies silvestres de frijol del Estado de Durango estudiadas.

**Metodología.** El ADN se aisló de manera individual de 28 individuos entre los 10 y 12 días de edad a partir de tejido foliar (20 mg). La extracción se realizó con base en el protocolo (2), mientras que para la cuantificación de la pureza del ADN obtenido se utilizó un Nanodrop 2000. La electroforesis se realizó en geles de 1%. Se llevó a cabo la amplificación de la región rbcL del cloroplasto y la región ITS del ADN ribosomal nuclear. La amplificación se realizó en un termociclador LABNET Termociclador Multigene Optimax. Para la purificación de productos amplificados se utilizó el kit comercial de Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System de Promega (Madison, EUA). La secuenciación se realizó con el método de dideoxinucleótidos marcados en los secuenciadores modelo 3500 y 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Las secuencias fueron editadas en el programa ChromasPro versión 2.1.10.

y el alineamiento con el método Muscle en el programa Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA) Versión 6.0. Para determinar parámetros óptimos para la inferencia filogenética de las especies estudiadas, se realizó un análisis en el programa ModelTest versión 2.1.10. El agrupamiento de secuencias se realizó con base en el método Neighbor-joining con un bootstrap de 10000 réplicas en el programa Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 6.0 (MEGA) y el análisis filogenético mediante Inferencia Bayesiana con el programa Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees (BEAST) versión 1.10.4.

**Resultados y discusión.** Se obtuvo la extracción, amplificación y purificación de secuencias de 24 individuos silvestres de frijol para la amplificación de la región rbcL del cloroplasto y 4 individuos para la región del ADN ribosomal del núcleo. Para la región rbcL del cloroplasto se alinearon 34 secuencias, 23 secuencias correspondientes a las especies silvestres de frijol del Estado de Durango y 11 secuencias fueron obtenidas del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI).

Mientras que para la región del ADN ribosomal nuclear se alinearon 19 secuencias, 4 correspondientes a los individuos silvestres y 15 secuencias obtenidas del NCBI. La región rbcL mostró 623 sitios conservados, 20 sitios variables y 10 sitios informativos de un total de 643, mientras que la región del ADN ribosomal nuclear mostró 1 sitio conservado, 534 sitios variables y 533 informativos de un total de 535. Con base en la región rbcL del cloroplasto y por medio del método neighbor joining se generó un árbol donde las secuencias de los individuos silvestres de frijol del Estado de Durango, se agruparon de acuerdo con la especie. El modelo evolutivo que mejor se ajustó a los datos correspondió al modelo GTR+I+G. El análisis bayesiano con las secuencias de la región rbcL mostró que los individuos de las especies *P. leptostachyus*, *P. coccineus*, *P. vulgaris* y *P. microcarpus* formaron un grupo, especies que se caracterizan por flores con coloración lila a excepción de *P. coccineus* con coloración roja y blanca, distribuidas en una elevación de 737 a 654 metros, en climas templados, trópicos y subtropicales y con un hábito de crecimiento indeterminado a excepción de *P. leptostachyus*. Mientras que en un segundo grupo lo integraron los individuos de la especie *P. acutifolius* una especie nativa del suroeste de Estados Unidos y el noroeste de México, que se habita en ambientes áridos y donde el promedio de precipitación anual es menor a los 400 mm (3). El análisis Neighbor joining con la región ribosomal nuclear mostró un grupo integrado por los individuos de la especie *P. leptostachyus*, así como los de la especie *P. microcarpus* con un valor de 97% y 100% respectivamente.

**Agradecimientos.** Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango del Instituto Politécnico Nacional y a los proyectos SIP 20210637 y 20220754.

### Referencias.

- Delgado, S. A.; Thulin, M.; Pasquet, R.; Weeden, N.; Lavin, M. 2011. Vigna (Leguminosae) sensu lato: The Names and Identities of the American segregate genera. *Am. J. Bot.* Vol (98):1-22.
- Aljanabi, S.M. y Martínez, I. 1997. Universal and rapid salt extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids.*
- Debouck, D.G.; Hidalgo, R. 1985. Morfología de la planta de frijol común. En: López Genes, Marcellano; Fernández O., Fernando O.; Schoonhoven, Aart van (eds.), *Frijol: Investigación y producción. Programa de las Naciones Unidas (PNUD); Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO.* p. 7-41.
- Acosta-Gallegos, J.A.; Kelly, J. D. y Gepts, P. 2007. Prebreeding common bean and use of genetic diversity from wildgermplasm. *Crop Science*, 47, 544-559. *Research 25: 4692-4693.*

### Análisis bayesiano de las secuencias de frijoles silvestres con el marcador rbcL.

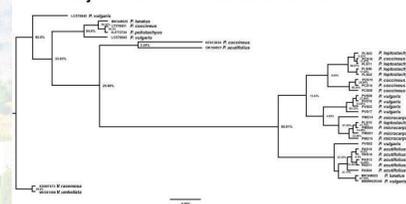


Figura 2. Árbol bayesiano de productos posteriores después de 10000 cadenas de Markov utilizando el método de Monte Carlo.

**Conclusiones y perspectivas.** La región del DNA ribosomal del núcleo mostró mayor número de sitios variables en comparación con la región del rbcL del cloroplasto en las secuencias de los individuos silvestres de frijol del Estado de Durango. Es importante en este trabajo ampliar el número de secuencias de las especies silvestres de frijol, que permita obtener resultados más robustos, actualmente muchos estudios se han centrado en la especie *Phaseolus vulgaris* (4) debido a la importancia de su valor alimenticio y otras cualidades. No obstante, lo anterior y aunque actualmente se le comienza a dar importancia a las especies silvestres como reservorio de genes para el fitomejoramiento genético, aún hace falta mucho trabajo en la diversidad genética.

## DINÁMICA DE EXPRESIÓN DE GENES IMPLICADOS EN LA REMODELACIÓN DE LA PARED CELULAR DEL FRUTO EN *Carica papaya*

Miguel Salvador-Adriano, Didiana Gálvez-López, Miguel Angel Reyes-López\*

Boulevard del Maestro, Esquina Elias Piña, sin número, Colonia Narciso Mendoza, Reynosa, Tamaulipas, México, C.P: 88700, Tel. 55-57-29-6000  
Ext. 87751. \*Correo: [mreyes@iorn.mx](mailto:mreyes@iorn.mx)

Palabras clave: Polisacáridos, hemicelulosas, transcriptoma, RNA-Seq.

**Introducción** La papaya mexicana (*Carica papaya*) es una fruta tropical de importancia económica. México es el centro de origen y el principal exportador de frutos de papaya a los Estados Unidos de América y Canadá (SIAP, 2021). El ablandamiento acelerado de la fruta durante la maduración es uno de los problemas postcosecha que limita su exportación. El ablandamiento es el resultado de la hidrólisis de los polisacáridos que constituyen la pared celular (Cosgrove, 2018; Dheilly et al., 2016). Existe una serie de enzimas hidrolasas que rompen los enlaces de unión entre polisacáridos, sin embargo, en papaya los reportes son escasos; estas están orquestadas por familias de genes aún poco exploradas. El objetivo del presente trabajo es conocer la dinámica de expresión de genes implicados en la remodelación de la pared celular del fruto de papaya durante el desarrollo y la madurez.

### Metodología.

Se estableció una plantación de papaya en el municipio de Tapachula, Chiapas, México. Cuando los frutos de papaya alcanzaron su grado de desarrollo esperado, con base en lo reportado por Aguilar-Velázquez et al. (2021), así como el grado de madurez (Santamaría-Basurto et al., 2009), se realizó el muestreo. Se eligieron tres árboles como réplicas biológicas. El muestreo consistió en coleccionar tres repeticiones (3 frutos) por estado de desarrollo y tres repeticiones por estado de madurez (Figura 1). Los frutos se desinfectaron, se realizaron cortes del mesocarpio en tres diferentes zonas del fruto, luego se congelaron a -80 °C hasta su empleo. El tejido de mesocarpio se maceró con nitrógeno líquido y se llevó a cabo la extracción de RNA total empleando tres métodos y la combinación de estos: CTAB, Trizol® y el Plant-mini-Kit de QIAGEN. Por otro lado, se llevó a cabo una búsqueda en el genoma de papaya (GenBank accession GCF\_000150535.2) de genes relacionados con la glucosilación e hidrólisis de polisacáridos de la pared celular. Se alinearon secuencias utilizando como molde genes de *M. domestica* y *Prunus pérsica*. Como criterio de selección, se utilizaron aquellas que tuvieron un e-value < 1x10<sup>-10</sup>.

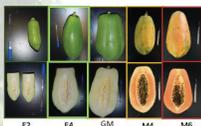


Figura 1. Estados de desarrollo y madurez de *C. papaya*: Desarrollo (E2 y E4), Madurez: Green mature (GM, M4 y M6).

**Resultados y discusión.** De los tres métodos de extracción de RNA, el método con mejores resultados fue la combinación de lisis con CTAB, limpieza con el método de TRIZOL, tratamiento con DNasa y purificación con columnas del Plant-mini-kit de QIAGEN (Figura 2).



Figura 2. Resultados de extracción de RNA.

El análisis *in silico* en el genoma de *C. papaya* (accesión GCF\_000150535.2 en NCBI con tamaño de genoma de 369.8 Mb), mostró que existen 17 genes que codifican para hemicelulosa, con tamaños entre 956 a 9299 pb; 41 genes codifican para pectina, con un rango de 640 a 10352 pb; 14 genes para extensinas, con un rango de tamaño de 2088 a 11950 pb; 15 genes que codifican para expansinas con un rango de 960 a 14393 pb, y 45 genes de celulosa con un rango de 1512 a 19589 pb (Figura 3).

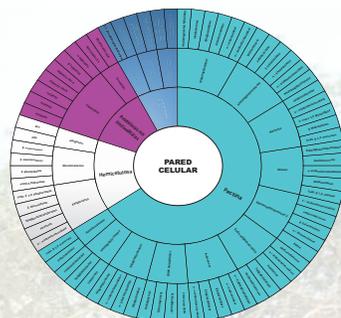


Figura 3. Familias de genes que codifican para enzimas involucradas en la remodelación de la pared celular de *C. papaya*.

**Conclusiones y perspectivas.** Se extrajo ARN de calidad empleando el método combinado de CTAB-TRIZOL-QIAGEN. Se identificaron 132 genes de hemicelulosa, pectina, celulosa y proteínas no enzimáticas en el genoma de *C. papaya*.

Se generarán bibliotecas de cDNA empleando el kit M-MLV RT de Promega®. Se realizará un análisis de secuenciación RNA-Seq a través de un servicio externo. Se realizarán análisis bioinformáticos: de ensamblaje del transcriptoma y un análisis de expresión diferencial empleando distintos programas. Posteriormente, se realizará una anotación funcional del transcriptoma para predecir y codificar las secuencias obtenidas. Finalmente, se realizará un análisis de ontología genética.

**Agradecimientos.** Agradecimientos a la empresa AGROMOD por el apoyo con el establecimiento del cultivo de papaya en sus huertos.

### Referencias.

1. Aguilar-Velázquez, B., Rosas-Quijano Raymundo, Vázquez-Ovando Alfredo, Miguel Salvador, Adriano-Anaya Lourdes & Didiana, galvez-lopez. (2021). CpXTH2 and CpXTH5 genes are expressed during fruit development and ripening in *Carica papaya* L. *Fruits*. 76. 3-10.
2. Cosgrove DJ. (2018). Diffuse Growth of Plant Cell Walls, *Plant Physiology*, Volume 176(1): 16-27.
3. Dheilly E, Gall SL, Guillou MC, Renou J-P, Bonnin E, Orsel M and Lahaye M. (2016). Cell wall dynamics during apple development and storage involves hemicellulose modifications and related expressed genes. *BMC Plant Biology*. 16: 201.
4. SIAP (Secretaría de Desarrollo Rural - Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). (2019). Anuario estadístico de la producción agrícola. SIAP. MEX. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (consultado: 1/09/2022).
5. Santamaría, F. B., Sauri, D. E., Espadas, G. F., Díaz P. R., Larqué, S. A. y Santamaría, J. M. (2009). Postharvest ripening and maturity indices for Maradol papaya. *Interciencia*. 24 (8): 583-588.
6. *Carica papaya* genome. Accession GCF\_000150535.2 ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF\\_000150535.2/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000150535.2/)). Consultado en: Septiembre 2023.

## FORMULACIONES A BASE DE *Bauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* Y *Metarhizium anisopliae* PARA EL CONTROL DE *Trips spp* EN ARÁNDANOS

Hernández Armenta Jesús Uriel, García Gutiérrez Cipriano\*

Tel: (687)8729626 Fax: (687)8729625e-mail: [garciacipriano@hotmail.com](mailto:garciacipriano@hotmail.com)

Palabras clave: *Bauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae*, *Trips spp.*, Arándano, Bioinsecticida, microencapsulado

**Introducción.** El cultivo de arándano ha tomado relevancia en el estado de Sinaloa, el SVSA documento en el ciclo otoño-invierno 2022-2023 una superficie de 1,678 ha de arándano. El rápido crecimiento de estas zonas de cultivo requiere la implementación de técnicas para el control de plagas, como el *Trips spp.*, el cual causa lesiones necróticas sobre el ovario, el polen y la corola de las flores, afectando directamente la producción de este cultivo. En México existen reportes de *Frankliniella occidentalis*, *F. cephalica* y *Scirtothrips dorsalis* en cultivos de arándano en el estado de Michoacán<sup>1</sup>, así como presencia en cultivos de arándano en el estado de Nayarit de *Caliothrips phaseoli*, *Scolothrips sexmaculatus*, *F. gardeniae*, *F. occidentalis* y *Scirtothrips dorsalis*, siendo el último el más predominante y para el suborden Tubulifera se identificó *Leptothrips sp.*<sup>2</sup> Los agricultores en Sinaloa, utilizan la aplicación de plaguicidas para controlar estas plagas siendo esta una de las principales causas de contaminación ambiental, generando problemas de salud pública. Por lo que se ha optado por la utilización de control biológico. En Sinaloa se han utilizado hongos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de diferentes plagas como el gusano cogollero<sup>3</sup>, así como *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Isaria javanica* para controlar el barrenador de la caña de azúcar<sup>4</sup>.

**Planteamiento del problema.** La presencia de trips en los cultivos de arándano genera daño a los frutos, causando pérdidas económicas aún no estimadas en la región. Por lo que se requiere métodos biológicos de control.

**Justificación.** La relevancia que está tomando los cultivos de arándano en el norte de Sinaloa se ve afectada por la presencia de trips, la utilización de hongos entomopatógenos ha demostrado ser viables para el control de esta plaga. Por lo que en el presente trabajo se elaborará una formulación adecuada a base de hongos entomopatógenos para controlar trips en cultivos de arándano en el estado de Sinaloa.

**Objetivo general.** Evaluar las formulaciones en emulsión y microencapsuladas a base de *B. bassiana*, *I. fumosorosea* y *M. anisopliae* efectivos para el control de trips en plantaciones de arándanos cultivadas en Sinaloa.

**Objetivos particulares.**

1. Identificar taxonómica y molecularmente las especies predominantes de trips en arándanos del norte de Sinaloa.
2. Evaluar la efectividad de la mezcla de cepas de hongos entomopatógenos a nivel de laboratorio.
3. Formular un producto biológico en emulsión y microencapsulación a base de *B. bassiana*, *I. fumosorosea* y *M. anisopliae* para el control de trips en cultivos de arándanos en Sinaloa.
4. Evaluar la eficacia de formulaciones experimentales en el laboratorio.

5. Evaluar la eficacia de formulaciones experimentales en unidades de macetas en invernadero.

**Estrategia metodológica.** Se llevarán a cabo la colecta de trips en campos de arándano en el norte de Sinaloa, los cuales serán identificados taxonómica y molecularmente mediante la extracción de ADN y (PCR) la cual será secuenciada para determinar sus especies usando el programa Blast del (NCBI) realizando un árbol filogenético utilizando el software MEGA 11, se usarán cepas pertenecientes a la colección del laboratorio de bioinsecticidas CIDIR-IPN Unidad Sinaloa para conocer su efecto en el control de trips y realizar las formulaciones en emulsión<sup>5</sup> utilizando aceite mineral y microencapsulados<sup>6</sup> por el método de secado por aspersión para después ser evaluadas en laboratorio y posteriormente en cultivos de arándanos bajo condiciones de invernadero para determinar cuáles formulaciones tienen mayor efectividad en el control de trips.

**Resultados esperados.** Elaborar y evaluar formulaciones a base de hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *I. fumosorosea* y *M. anisopliae* para el control de los trips en cultivos de arándano al norte de Sinaloa.

**Referencias.**

1. Bayardo, C. G.; Landa, A. Z.; Virgen, M. O. E.; Lemus, S. B. A.; Robles, B. A.; Isordia A., N.; Ayón, C. B. C., y Cambero C., O. J. (2023). EN PRENSA. Identificación y mejora biorracional de trips (Thysanoptera) en arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en Nayarit, México. *EN PRENSA. Revista biociencias*. <https://doi.org/10.15741/revbio.10.e1490>
2. Ortiz, J. E.; Infante, F.; Rodríguez, D. C. y Toledo, H. R. (2020). Discovery of scitotrips dorsalis (Thysanoptera: Thripidae) in Blueberry Fields of Michoacan, Mexico. *Florida Entomologist*, 103(3). <https://doi.org/10.1653/024.103.0316>
3. Vejar C. G.; García G. C.; Rosas, G. N. M.; Escobedo, B. C. M. y González O. H. A. (2017). Morphological and Molecular Characterization of Entomopathogenic Fungi with Potential to Control Sugarcane Borers at Sinaloa. *Southwestern Entomologist*. <https://doi.org/10.3958/059.042.0208>
4. Manzanarez, J.; Rosas, G.; Luna G.; Escobedo, B. y García, G. (2021). Evaluación de Formulaciones en Aceite de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* Contra *Chloridae virescens* F., *Southwestern Entomologist* 46 (2): 503-510. ISSN: 0147-1724 (impreso), 2162-2647 (online). <https://doi.org/10.3958/059.046.0219>
5. Padilla M., Y.; García G., C. (2018). Bioinsecticida Microencapsulado a base de hongos entomopatógenos para el control de *Heliothis virescens*, Frontera

Biotecnológica. Revista digital del IPN CIBA Tlaxcala, 19 de octubre de 2018. ISSN: 2448-8461

## EVALUACIÓN DE TRES EXTRACTOS VEGETALES (*Tagetes erecta*, *Ricinus communis* Y *Cosmos bipinnatus*) COMO PLAGUICIDAS CONTRA LOS EFECTOS DE *Meloidogyne* sp. EN *Solanum lycopersicum* USANDO ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL.

Jeisel Delgado Flores, Raúl Jacobo Delgado Macuil, María Eugenia Jaramillo Flores\*

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), Laboratorio de Biopolímeros, (55)57296000, ext. 57873, [mjari@pn.mx](mailto:mjari@pn.mx)  
Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA), Laboratorio 1, [rdmacuil@yahoo.com.mx](mailto:rdmacuil@yahoo.com.mx)

Palabras clave: jitomate, nematodo, extractos vegetales, *Meloidogyne* sp. IR.

**Introducción.** El jitomate es la hortaliza más consumida a nivel mundial, México ocupa el décimo lugar en producción de esta hortaliza, sin embargo, datos de la SIAP reportan que en los últimos años la producción de jitomate se ha reducido; tan solo en el último año se ha reportado 2.9% menor producción con respecto al año anterior. Una de las mayores afectaciones es la presencia de plagas y/o enfermedades, entre las que encontramos la presencia de nematodos del nudo radical (*Meloidogyne* sp) (1), diagnosticar la infestación del nematodo implica arrancar toda la planta para poder verificar la formación de agallas en las raíces, los J2 se introducen en el ápice de la raíz deformándola y obstruyendo el paso de nutrientes, llevando a la planta al borde de la muerte y disminución en la producción de jitomate (2). Existen diferentes opciones para combatir la plaga del nematodo agallador, entre las más comunes encontramos el uso de agroquímicos que como bien se sabe, provocan contaminación en el ambiente e incluso en el mismo producto, otra opción más natural es el uso de plantas asociadas a los cultivos, entre las que podemos encontrar principalmente el género *Tagetes*, usado como abonos verdes o en rotación de cultivos para disminuir las poblaciones de *Meloidogyne* sp. (3). Algunas otras investigaciones han reportado también el uso de *Asteráceas* como abonos verdes (1), así como el uso de Higuierillas ya que, gracias a la presencia de metabolitos secundarios tóxicos para los nematodos, como lo es la ricina, disminuye las poblaciones de *Meloidogyne* sp. (4).

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad nematocida de tres extractos vegetales *Tagetes erecta*, *Ricinus communis* y *Cosmos bipinnatus*, aplicados a cultivo de *Solanum lycopersicum* en invernadero contra la presencia de *Meloidogyne* sp. empleando espectroscopia vibracional de infrarrojo.

**Metodología.** Para realizar los estudios de este trabajo se realizó un muestreo de tres especies vegetales en el estado de Tlaxcala, así como de plantas de jitomate de invernaderos afectados con nematodos, esto para su posterior aislamiento e identificación molecular. La metodología general se ha dividido en cuatro etapas como se observa en la figura 1. El aislamiento del nematodo se llevó a cabo por la técnica de maceración-filtrado-centrifugación (Hopper et al, 2005) así como disección directa de agallas. Para la caracterización de los extractos se usará HPLC-MS e IR, y una vez seleccionados los mejores tratamientos, estos serán aplicados y evaluados en invernaderos que ya han sido identificados con afectación del nematodo agallador en el estado de Tlaxcala.

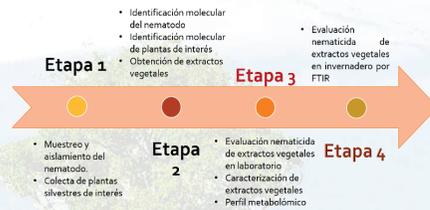


Figura 1. Estrategia general de la metodología de trabajo.

**Resultados y discusión.** A partir del muestreo de raíces de jitomate en invernaderos afectados por nematodos se logró aislar e identificar molecularmente dos tipos de nematodo agallador de raíz como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Identificación molecular de nematodo en invernadero.

Identificación	Porcentaje de similitud
<i>Nacobbus aberrans</i>	99.66 %
<i>Meloidogyne incognita</i>	99.29 %

Así mismo se muestrearon tejidos de tres diferentes plantas, a partir de un análisis molecular se identificaron como *Tagetes erecta* (99.77% de similitud), *Ricinus communis* (100%) y *Cosmos bipinnatus* (100%). De las tres plantas se obtuvieron diferentes rendimientos; siendo la higuierilla donde se obtuvo el rendimiento más alto, mientras que el rendimiento más bajo se obtuvo con compasúchil. Cada planta fue tratada con tres diferentes solventes (hexano, acetona y etanol) a tres diferentes tiempos (24, 48 y 72 h). Para el caso de la higuierilla, el mejor resultado se obtuvo con acetona a las 48 h de maceración (8.14%), los resultados coinciden y superan los obtenidos por Escoto (2016), donde obtuvo un rendimiento de 3.96%. En compasúchil el mejor rendimiento se obtuvo con etanol a las 72 h (0.334 %), los resultados obtenidos están por debajo de los reportados por Camarillo (2009) y Muñoz et al. (2007), con rendimientos del 0.5 al 0.6% en *T. Patula*, sin embargo, es posible que la diferencia encontrada se deba al tejido de la planta que fue utilizado para obtener el extracto. En el caso de Mirasol, los resultados obtenidos con etanol concuerdan con los reportados por Cardona (2019), donde reporta un porcentaje de rendimiento que puede variar entre el 1.34 a 2.35% en plantas silvestres, en este trabajo se obtuvo un rendimiento del 1.6% con etanol a las 72 h, según lo reportado por el autor, el porcentaje varía por el tiempo de

almacenamiento de la planta, sin embargo el rendimiento obtenido con acetona a las 48 h de maceración es mayor siendo un rendimiento del 2 %, mucho más cercano al valor máximo obtenido por Cardona (2019). En todos los casos, el hexano tuvo los menores rendimientos. Cada extracto vegetal obtenido fue probado en laboratorio para efecto nematocida, la concentración inicial usada fue de 20% de extracto crudo preparado en una solución de Tween 20 (10%) para resuspender cada extracto, como control se usó Verango, agroquímico usado por productores en el estado, y otro control sin tratamiento donde solo se usó la solución de Tween 20 (10%). Para el caso de mirasol, sin importar el tiempo de maceración para la obtención de los extractos (24, 48 y 72 h), se observó la inmovilidad de los nematodos en un 100 % con el disolvente de etanol y acetona. La higuierilla con etanol no muestra diferencia entre tiempo de maceración entre 24 y 48 h, pero el extracto obtenido a las 72 h, solo tuvo 80% de efectividad. Para el caso de compasúchil, sin importar el tiempo de maceración en etanol, se obtuvo un % de inmovilidad del 100%, en el caso de los obtenidos con acetona, a las 72 h de maceración se obtuvo un % de hasta el 80%, mientras que a las 24 y 48 h se obtuvo el 100%, esto según lo reportado por algunos autores se puede deber a la degradación de ciertos metabolitos, que puede ser disminuyan su presencia conforme aumenta el tiempo de maceración o son degradados durante el proceso, y por lo tanto tienen un menor efecto nematocida. En todos los casos los tratamientos con extractos obtenidos a partir de hexano presentaron % de inmovilidad bajos, por lo que se descartaron para las siguientes pruebas de inmovilidad a concentraciones de 10 y 5%.

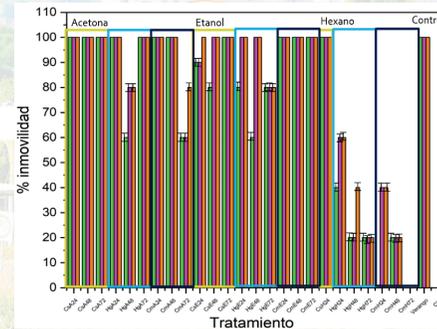


Figura 2. Efecto de extractos vegetales a las 24, 48 y 72 h después de su inoculación.

Para el futuro monitoreo que se llevará a cabo en plantas de jitomate por medio de IR, se preparó una solución estándar de L-fenilalanina con diluciones desde 0.1 a 1,000,000 ppm y se tomó lectura en IR. Se encontraron bandas de absorción entre 1200-1400  $cm^{-1}$  las cuales son asociadas a la amida III (Barth, 2007), bandas a los 1454  $cm^{-1}$  correspondientes a los grupos metilo y metileno de lípidos y proteínas, una banda intensa en 1650  $cm^{-1}$  relacionada con el grupo

funcional amida I de proteínas (Barth, 2007; Barraza et al, 2013), y la banda de 1494  $cm^{-1}$ , reportada específicamente para el aminoácido fenilalanina (Goormaghtigh et al, 1994, Barth, 2007). Tomando la banda marcada para L-fenilalanina representada en el rango de la huella dactilar para muestras biológicas, se tomó el valor marcado en 1494  $cm^{-1}$ , de donde se tomaron solo 4 puntos para realizar un ajuste lineal, para aplicar la ecuación resultante y conocer si la concentración de L-fenilalanina disminuye o aumenta su expresión como respuesta al estrés que sufre la planta por presencia del nematodo. El resultado que se obtuvo fue de  $R^2=0.95351$ .

**Conclusiones y perspectivas.** Se esperaba encontrar poblaciones de *Meloidogyne* sp. en los invernaderos muestreados de cultivo de jitomate, sin embargo, se identificaron molecularmente dos diferentes especies de nematodos agalladores, donde se realizarán los estudios de inducción de los extractos vegetales, teniendo un 99.66% de coincidencia para *Nacobus aberrans* y un 99.29 % para *Meloidogyne incognita*. Se espera obtener resultados favorables para ambos tipos de nematodos a partir del uso de los extractos vegetales obtenidos. Los porcentajes de extracción de los tejidos de plantas fueron comparables con lo ya reportado en la literatura y solo para higuierilla el porcentaje de extracción fue mayor, según el análisis estadístico realizado, es la planta donde se obtuvieron mejores rendimientos, mientras que para mirasol y compasúchil no hay diferencia significativa sin importar el solvente ni tiempo de maceración. Así mismo se inició con el análisis de infrarrojo de estándares de algunos de los principales metabolitos, que de acuerdo a referencias podrían modular su presencia durante la infestación de nematodos agalladores, donde para L-fenilalanina, se obtuvo un ajuste lineal mayor al 0.95. Se tomarán de referencia otros estándares como glicerol, ácido palmítico y  $\beta$ -alanina para poder comparar también su presencia en las plantas de jitomate.

**Agradecimientos.** Agradezco a CONACYT por el número de beca 854823 y a CIBA por recibirme en estancia.

### Referencias.

- Aballey E, Erwin, Inzunza B. Violeta. 2002. Evaluación de plantas con propiedades nematocidas en el control de *Xiphinema index* en vid de mesa cv. *Thompson seedless* en la zona central de Chile. Agricultura Técnica. Vol. 62, No.3 pp. 357-361.
- San Blas Ernesto, Paba Gabriel, Cubillan Nestor, Portillo Edgar, Cassasa Padrón Ana, Gonzales Gonzales Cesar, Guerra Mayamaru. 2020. The use of infrared spectroscopy and machine learning tools for detection of *Meloidogyne* infestation. Plant Pathology. Vol.69, pp. 1589-1600.
- Gómez Rodríguez Olga, Zavaleta Mejía Emma. 2001. La asociación de cultivos una estrategia más para el manejo de enfermedades, en particular con *Tagetes* spp. Revista Mexicana de Fitopatología. Vol.19 No.1 pp.94-99.
- Arboleada Francisco de Jesús, Guzmán Oscar Adrián, Mejía Luis Fernando. 2012. Efecto de extractos botánicos de higuierilla (*ricinus communis* linneo), sobre el nematodo barrenador [*radopholus similis* (cobb.) thorne] en condiciones *in vitro*. vol.35

## CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS DE GENOMAS DE CEPAS DE *Bdellovibrio* Y SU APLICACIÓN EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Candidatus Liberibacter asiaticus* CAUSANTE DEL HLB EN *Citrus Latifolia* Tanaka

Cynthia Guadalupe Rodríguez Quibrera, Xianwu Guo Zhou\* y José Luis Hernández Mendoza.

Laboratorio de Biotecnología Genómica, Centro de Biotecnología Genómica del IPN. Blvd del Maestro SN, Narciso Mendoza, Cp. 88710 Reynosa, Tamps. Teléfono 899 924 3627ext. 87752 [xguo@ipn.mx](mailto:xguo@ipn.mx)

Palabras clave: *Bdellovibrio*, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, Huanglongbing, control biológico.

**Introducción.** La producción de cítricos en México es una actividad económica de importancia agroalimentaria, se encuentra establecida en 610,202 h distribuidas en 24 Entidades, con una producción de 8.3 M de t con un valor superior a los 30,459 MM de pesos. Actualmente, este cultivo se encuentra seriamente afectado por el Huanglongbing (HLB), enfermedad de los cítricos de importancia a nivel mundial, responsable del declive de la industria citrícola en varios países (1). El HLB es causado por la alfa-protobacteria Gram negativa *Candidatus Liberibacter* spp (CL), restringida al floema de la planta y la cual no ha podido ser cultivada en el laboratorio. Se conocen tres especies: *asiaticus*, *africanus* y *americanus*. Estas bacterias son introducidas por los psílidos en el floema de la planta, crecen y se reproducen dentro del sistema vascular, causando su muerte (1). Los psílidos vectores son: *Diaphorina citri* (Kuwayama) para las especies asiáticas y *americanus*, y *Trioxa erytrae* (Del Guercio) para la *africanus* (6) (Figura 1). Los síntomas característicos de esta enfermedad son los brotes amarillos, frutos deformes, y el declive de los árboles infectados (1) (Figura 2).

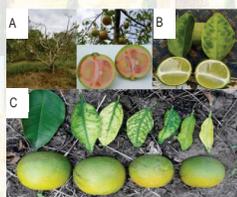


Figura 2. Síntomas característicos de la enfermedad HLB en cítricos. A) toronja, B) limón Persa C) naranja. Los síntomas del HLB en hojas: brotes amarillos, moteados irregulares, engrosamiento de las nervaduras, en fruto: deformes, ácidos, con pérdida de peso y nivel de jugo, maduración temprana, inversión del color y caída. Fotografías tomadas en Veracruz por Cynthia Rodríguez y Carlos Hernández (B y C).

Para la detección de CL se utiliza la inspección visual de los síntomas y la prueba molecular PCR (4). Las acciones realizadas para su manejo son el control del psílido vector, el uso de material vegetal certificado, y un manejo nutricional eficiente en la planta. La importancia de esta enfermedad se debe, además de lo destructiva, a que en la actualidad no se conoce cura o tratamiento efectivo (1). Una alternativa para el manejo del HLB podría ser el control biológico (CB), el cual surge como una opción amigable para el ambiente, que involucra el uso de microorganismos beneficios (o de sus metabolitos o subproductos) tales como: hongos, bacterias, nematodos y virus, que por diferentes mecanismos atacan y regulan los patógenos de las plantas y las enfermedades que causan (3). Dentro de los microorganismos existen con amplia distribución en la naturaleza, bacterias depredadoras de otras bacterias "BALOs" (*Bdellovibrio* And Like Organisms), que son pequeños bacilos curvados (0.2 a 0.5 µm de ancho y 0.5 a 2.5 µm de largo), aeróbicos y altamente móviles, su crecimiento y reproducción dependen completamente del consumo de otras bacterias Gram-negativas (2).

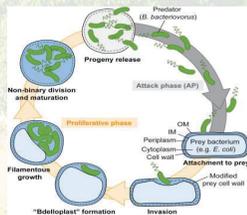


Figura 3. Ciclo de vida depredador de *Bdellovibrio bacteriovorus*. Las células monoflageladas de *B. bacteriovorus* nadan en la fase de ataque y al entrar en contacto con una presa (*E. coli*), el depredador se adhiere a ella e ingresa en el periplasma del huésped (5).

Los BALOs tienen el potencial de reducir las poblaciones de patógenos, sin embargo, han sido poco estudiados y utilizados. Estudios *in vivo* han demostrado que este agente no es tóxico ni

inmunogénico en diversos modelos animales y seres humanos (2). Con estos antecedentes, se puede inferir en el posible potencial de los BALOs para ser utilizados en el CB de esta enfermedad.

### Planteamiento del problema.

La citricultura posiciona a nuestro país como uno de los principales productores a nivel mundial, sin embargo, se encuentra afectada por el HLB, enfermedad de gran importancia a nivel mundial, que ha ocasionado graves daños a la industria citrícola, destruyendo la producción de cítricos en diversas partes del mundo. En Brasil, México y Estados Unidos ha causado enormes pérdidas económicas por la disminución de rendimientos, pérdida de la calidad de la fruta, muerte de plantas, arranque de los huertos infectados, control de vectores y reconversión del sistema de producción de plantas en los viveros. Una de las acciones de manejo de la enfermedad se centra en la aplicación de insecticidas para bajar las poblaciones del psílido vector, sin embargo, el uso indiscriminado de agroquímicos daña al medio ambiente, ser humano, animales, insectos, microorganismos beneficios y generan resistencia. En Brasil, Florida (EAU), México, China y Pakistán, se han confirmado casos de resistencia en once ingredientes activos diferentes, complicando aún más el manejo de la enfermedad. Por otro lado, en California, EAU, se está empleando el uso de abióticos para disminuir las concentraciones de CLAs, pero no se conocen los efectos adversos, además, para la exportación de cítricos el empleo de estas sustancias no está permitido.

### Justificación.

Actualmente se busca un manejo integral de plagas y enfermedades mediante el empleo de productos biológicos. En la naturaleza podemos encontrar un grupo de bacterias poco estudiadas que son depredadoras y se le conoce como BALOs, su crecimiento y reproducción dependen completamente del consumo de otras bacterias Gram negativas. Sin embargo, se requiere mayor conocimiento de sus aplicaciones en agricultura, por lo que, es necesario la exploración de nuevas cepas, así como evaluar su aplicación para el control de fitopatógenos. Por ello en este trabajo se propone la caracterización, análisis y aplicación de BALOs, las cuales podrían ser empujadas como estrategia en el control biológico de bacterias fitopatógenas que causan enfermedades de importancia económica, como es el caso de (CLAs) causante de la enfermedad Huanglongbing de los cítricos.

**Objetivo general.** Caracterizar y analizar cepas de *Bdellovibrio* y su aplicación en el control biológico de la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* causante del Huanglongbing en *Citrus latifolia* Tanaka.

### Objetivos particulares.

1. Caracterizar aislados de *Bdellovibrio* spp. de la zona citrícola de Veracruz.
2. Analizar y seleccionar cepas BALOs con mejor eficiencia de depredación contra la bacteria modelo *Liberibacter crescens*.

3. Evaluar la actividad depredadora de *Bdellovibrio* sp. en *Citrus latifolia* Tanaka infectado con *Candidatus Liberibacter asiaticus*.
4. Secuenciar y analizar el genoma de la cepa seleccionada de *Bdellovibrio* con mayor efecto en el control biológico contra la enfermedad Huanglongbing.

### Estrategia metodológica.



### Resultados esperados.

Con esta investigación se tendrán las bases para proponer un manejo de control biológico utilizando bacterias depredadoras *Bdellovibrio*, además, se conocerá el genoma de la cepa seleccionada y los genes relacionados con el mecanismo del proceso de depredación contra CLAs causante de la enfermedad devastadora de los cítricos el HLB.

### Referencias.

1. Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: A destructive, newly emerging, century-old disease of citrus. *Journal of plant pathology*, 88: 7-37.
2. Cortes Prieto María Isabel. 2019. Bacterias depredadoras: *B. bacteriovorus* y sus posibles aplicaciones. Trabajo fin de grado. Facultad de Farmacia Universidad Complutense Madrid. Pp 20.
3. Cristancho Ardia MA. Control biológico de enfermedades. Enfermedades del café en Colombia [Internet]. Colombia; 2003. P 55-63.
4. Futch, S., Weingarten, S., and Irey, M. 2009. Determining HLB infection levels using multiple survey methods in Florida citrus. In *Proceedings Florida State Horticultural Society*, 122: 152-157.
5. Mahmoud, K. K., and Koval, S. F. 2010. Characterization of type IV pill in the life cycle of the predator bacterium *Bdellovibrio*. *Microbiology* 156, 1040-1051.
6. Monzó, C., Urbaneja, A. and Tena, A. 2015. Los psílidos *Diaphorina citri* y *Trioxa erytrae* como vectores de la enfermedad de cítricos Huanglongbing (HLB): reciente detección de *T. erytrae* en la Península Ibérica. *Boletín SEEA*, 1, 29-37.

## ANÁLISIS DE LA RESISTENCIA CUTICULAR DE GENOTIPOS DE PAPAYA (*Carica papaya* L.) A *Colletotrichum gloeosporioides* Y *Colletotrichum truncatum*.

David Enrique Pérez-Leyva, Flor de Fátima Rosas-Cárdenas, María Elena Santos Cervantes\*  
CIIDIR-IPN Unidad Sinaloa, Guasave, Sinaloa, México., (687) 8729626 Ext. 87677. msantos@ipn.mx.

Palabras clave: papaya, antracnosis cutícula, análisis, microestructura, composición.

**Introducción.** El cultivo de papaya es de gran importancia para México, ya que es el tercer país productor y el principal exportador de fruta fresca de papaya a nivel mundial. Sin embargo, la antracnosis es la enfermedad poscosecha más prevalente, donde las pérdidas producto de esta enfermedad oscilan desde un 40% hasta un 100%. Las especies del género *Colletotrichum* son responsables de dicha patología, sobre todos *C. gloeosporioides* y *C. truncatum*, ya que se han reportado como las especies más importantes en México (1). En investigaciones recientes se identificó a un genotipo de papaya con resistencia a la antracnosis causada por ambas especies de *Colletotrichum*; dicha resistencia pudo atribuirse a una mayor deposición de compuestos de defensa a nivel de pared celular, así como a un mayor grosor de cutícula, sin embargo, dicho mecanismo no se encuentra del todo elucidado. Por su parte, la cutícula y los diversos monómeros que la componen han mostrado una gran capacidad inhibitoria de hongos patógenos en cultivos de importancia agronómica. Por ello, el objetivo de la presente investigación consiste en analizar la resistencia cuticular de genotipos de papaya a *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum truncatum*.

**Metodología.** Se colectaron frutos de los genotipos de papaya resistente y susceptible a la enfermedad de la antracnosis y se incubaron a 28°C y 90% HR durante 5 y 6 días posteriores a la cosecha para evaluar la infección natural de campo en los frutos de ambos genotipos de papaya. Se realizó un bioensayo completamente al azar con 4 réplicas biológicas, considerando 3 frutos por réplica. El análisis estadístico se llevará a cabo mediante un análisis ANOVA con una comparación de medias por Tukey con un nivel de significancia de 0.05. Para las observaciones de las características microestructurales de la cutícula de ambos genotipos se utilizaron las técnicas de microscopía fotónica y microscopía electrónica de barrido (2). Para el análisis de las diferencias en la composición de la cutícula de los genotipos resistente y susceptible se utilizará la metodología reportada por Wang et al. (3). Para el análisis transcriptómico por RNA-seq se extraerá RNA de las muestras. Se generará un total de 16 librerías de ADNc; se prepararán y procesarán en la Universidad de Davis, California, usando el kit de preparación de bibliotecas de ARN TruSeq de Illumina v2 y secuenciarán en un carril en el Illumina HiSeq. Las lecturas de RNAseq se procesarán con base a lo descrito por Blanco-Ulate et al. (4). Se realizarán análisis por PCR en tiempo real para validar genes de importancia biológica en el patosistema.

**Resultados y discusión.** Los análisis mediante microscopía electrónica de barrido y microscopía confocal de muestras de tejido

del genotipo resistente y el genotipo susceptible mostraron diferencias anatómicas sobre la superficie cuticular entre ambos genotipos, encontrado como resultado un mayor grosor cuticular en el genotipo resistente, en comparación con el genotipo susceptible mediante en análisis por microscopía confocal (Figura 1).

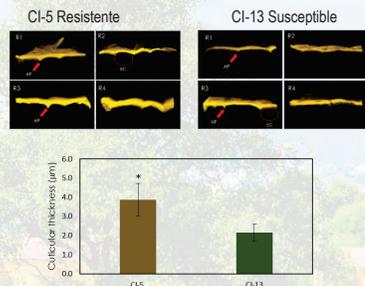


Figura 1. Grosor cuticular de los genotipos resistente y susceptible a la enfermedad de la antracnosis.

Por otro lado, el análisis de microscopía electrónica de barrido (Figura 2) mostró que la microestructura de las ceras epicuticulares de ambos genotipos de papaya es muy similar, presentando un aspecto costroso y con cristaloides de cera grumosos, sin embargo, estas estructuras se visualizan en mayor magnitud en el genotipo resistente. Por otra parte, el genotipo susceptible presentó una mayor densidad estomática (Figura 3) en comparación con el genotipo resistente.

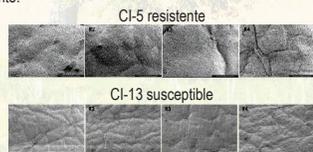


Figura 2. Superficie cuticular de los genotipos resistente y susceptible.

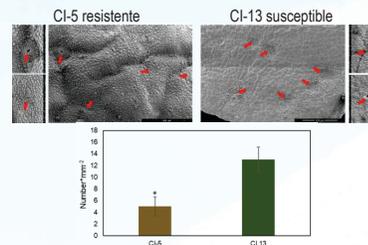


Figura 3. Densidad estomática de los genotipos resistente y susceptible.

**Conclusiones y perspectivas.** Se encontró mediante análisis microscópicos, un mayor grosor de cutícula, así como una menor densidad estomática en la superficie cuticular del genotipo CI-5 resistente a la antracnosis, lo que podría suponer una ventaja anatómica sobre el genotipo CI-13 susceptible. Por otro lado, los análisis transcriptómicos y metabólicos posteriores, proporcionarán más información sobre características que le confieren resistencia a la antracnosis al genotipo CI-5 de papaya. La presente investigación resulta de gran importancia para generar información que facilite el mejoramiento genético del cultivo.

**Agradecimientos.** Se agradece el financiamiento del presente trabajo de investigación por medio del proyecto 2020 UC MEXUS-CONACYT.

### Referencias.

1. 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(3), 549-570.
2. Camacho-Vázquez, C., Ruiz-May, E., Guerrero-Analco, J. A., Elizalde-Contreras, J. M., Enciso-Ortiz, E. J., Rosas-Saito, G., ... & Aluja, M. (2019). Filling gaps in our knowledge on the cuticle of mangoes (*Mangifera indica*) by analyzing six fruit cultivars: architecture/structure, postharvest physiology and possible resistance to fruit fly (*Tephritidae*) attack. *Postharvest Biology and Technology*, 148, 83-96.
3. Wang, J., Sun, L., Xie, L., He, Y., Luo, T., Sheng, L., ... & Cheng, Y. (2016). Regulation of cuticle formation during fruit development and ripening in 'Newhall' navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck) revealed by transcriptomic and metabolomic profiling. *Plant Science*, 243, 131-144.

XXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

4. Blanco-Ulate, B., Vincenti, E., Powell, A. L., & Cantu, D. (2013). Tomato transcriptome and mutant analyses suggest a role for plant stress hormones in the interaction between fruit and *Botrytis cinerea*. *Frontiers in plant science*, 4, 142.

POTENCIAL BIOLÓGICO DE ACEITES ESENCIALES SOBRE *Dendroctonus* spp. Y LOS HONGOS ASOCIADOS AL PROCESO DE INFESTACIÓN DE *Pinus* spp.

Luis Mario Ayala-Guerrero, Aarón Mendieta-Moctezuma\*

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, México. Contacto: 5525396076, amendieta@ipn.mx

Palabras clave: *Dendroctonus* spp., aceite esencial, repelencia, bioinsecticida, semioquímicos.

**Introducción.** Los bosques son un sustento importante para las poblaciones humanas, ya que proporcionan diversos bienes y servicios ambientales. México posee poco más de 66 millones de hectáreas de ecosistemas forestales templados y tropicales, lo cual representa 33% del territorio nacional. El cambio climático global ha propiciado el aumento de enfermedades forestales, brotes de plagas, así como el riesgo de nuevas asociaciones entre plagas forestales y patógenos (2). Históricamente, las plagas de insectos han ocasionado daños a los ecosistemas forestales, como agentes causales de la disminución del crecimiento, deformaciones, debilitamiento o la muerte de los individuos hospederos, provocando un impacto ecológico, económico y social. Los bosques templados de México no son la excepción ante las consecuencias del cambio climático y su relación con las plagas forestales. Los insectos descortezadores del género *Dendroctonus* se encuentran entre los factores bióticos más destructivos de los bosques de coníferas de todo el mundo (1). Los aceites esenciales (AEs) cuentan con actividad insecticida, antifúngica y semioquímica respecto a otras especies, por lo que pueden representar una alternativa de control. El objetivo del trabajo es evaluar el potencial biológico de los AEs sobre *Dendroctonus* spp. y los hongos asociados al proceso de infestación de *Pinus* spp.

**Metodología.** La estrategia experimental se encuentra integrada en por 5 etapas (Figura 1).

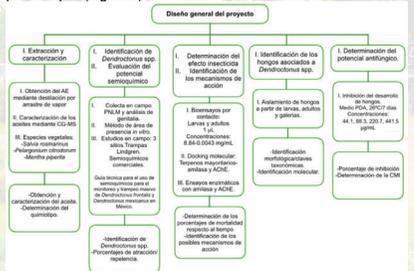


Figura 1. Diagrama general de la estrategia experimental.

**Resultados y discusión.**

**Extracción y caracterización del aceite esencial de *Pelargonium citrodorum*, *Salvia rosmarinus* y *Mentha piperita*.**

Se obtuvo el aceite esencial de hojas frescas de *Pelargonium citrodorum*, *Salvia rosmarinus* y *Mentha piperita* con un rendimiento de 0.8, 2.0 y 1.0 % (p/p) respectivamente.

La composición química de los AEs se determinó por GC-MS y se compararon con el reportado en la biblioteca NIH Mass Spectral Library 2.0. Los terpenos mayoritarios identificados en el AE de *P. citrodorum* fueron citronelol y  $\alpha$ -gurjuneno (figura 2). En el caso de *S. rosmarinus* son 1,8-cineol y  $\alpha$ -pineno (figura 3). Mentol e isomentona predominan en *M. piperita* (figura 4).

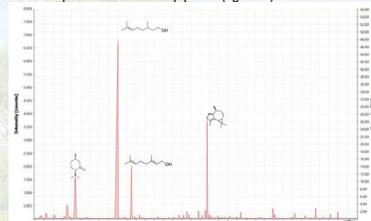


Figura 2. Espectro de CG-MS de *Pelargonium citrodorum*.

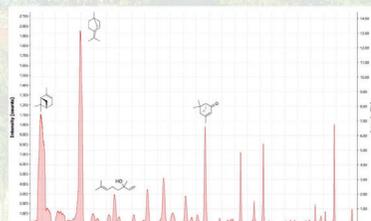


Figura 3. Espectro de CG-MS de *Salvia rosmarinus*.

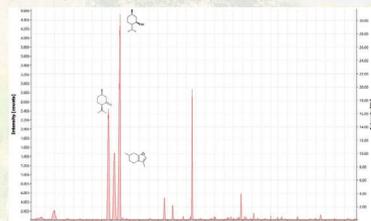


Figura 4. Espectro de CG-MS de *Mentha piperita*.

**Identificación de las especies de *Dendroctonus* presentes en zonas de afectación en el Parque Nacional La Malinche.**

La identificación de las diferentes especies de insectos descortezadores presentes en los sitios de muestreo se determinó de acuerdo con la Guía ilustrada para identificar a las especies del género *Dendroctonus* presentes en México y Centroamérica. Se realizó la extracción de genitalia para la posterior observación del tamaño del insecto, así como de estructuras morfológicas como tubérculos frontales, callo pronotal, interesarías, área preepisternal y varilla seminal. Se identificaron diferentes tipos de insectos descortezadores en los sitios de muestreo, predominando *Dendroctonus mexicanus*.

**Efecto atrayente-repelente de los AE sobre descortezadores del género *Dendroctonus* spp.**

Se emplearon concentraciones de 0.55-8.83 mg/mL de los AE observando que *S. rosmarinus* presenta efecto atrayente arriba del 50% a partir de 0.55 mg/mL. El efecto repelente lo mostró *P. citrodorum* con valores del 50% a partir de 0.55 mg/mL (figura 5).

**Efecto insecticida de los AEs sobre *Dendroctonus* spp.**

Se ensayaron concentraciones de 5.51-88.3 mg/mL de cada AE, donde *S. rosmarinus* a 5.51 mg/mL presentó 50% de mortalidad a los 30 minutos de contacto. Para el caso del AE de *P. citrodorum* mostró 100% de mortalidad a partir 44.2 mg/mL a 150 minutos de contacto. Por lo que, a bajas concentraciones se requieren mayores tiempos de contacto.

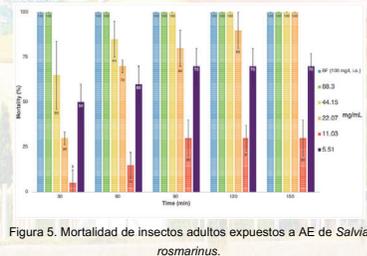


Figura 5. Mortalidad de insectos adultos expuestos a AE de *Salvia rosmarinus*.

**Aislamiento de hongos de *Dendroctonus* spp. y potencial antifúngico de los AE.**

Inicialmente, se aislaron y purificaron 5 diferentes hongos filamentosos a partir de insectos adultos de *Dendroctonus* spp. Para el potencial antifúngico de los AE, se ensayaron concentraciones de 10-300  $\mu$ L, donde el AE de citronela presentó mayor inhibición (80% en 4 de los 5 hongos). El menor efecto lo mostró el AE de *S. rosmarinus* (Tabla 1).

Tabla 1. Porcentajes de inhibición de los AEs sobre el crecimiento micelial de los hongos aislados.

Essential oil (441.5 $\mu$ g/mL)	Isolated fungi	Time				
		24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
<i>Pelargonium citrodorum</i>	H1	88.13.8 <sup>a</sup>	65.89.2 <sup>a</sup>	51.547.9 <sup>a</sup>	48.44.10 <sup>a</sup> **	51.44.5.6 <sup>a</sup>
	H2	20.44.3 <sup>a</sup>	51.94.14.0 <sup>a</sup>	83.34.1.8 <sup>a</sup>	84.34.17.6 <sup>a</sup>	82.24.2.2 <sup>a</sup>
	H3	0.04.0 <sup>a</sup>	100.04.0 <sup>a</sup>	100.04.0 <sup>a</sup>	100.04.0 <sup>a</sup>	100.04.0 <sup>a</sup>
	H4	75.04.3 <sup>a</sup>	85.74.14.0 <sup>a</sup>	68.04.3 <sup>a</sup>	58.54.7 <sup>a</sup>	20.44.17.8 <sup>a</sup>
	H5	75.04.0 <sup>a</sup>	67.44.1 <sup>a</sup>	62.04.17.7 <sup>a</sup>	30.04.3 <sup>a</sup>	4.64.4.0 <sup>a</sup>
<i>Salvia rosmarinus</i>	H1	7.14.3 <sup>ab</sup>	21.14.10.4 <sup>a</sup>	20.84.11.5 <sup>a</sup>	20.84.13.1 <sup>a</sup>	21.84.15.2 <sup>a</sup>
	H2	20.44.3 <sup>a</sup>	1.84.1.6 <sup>a</sup>	8.84.2.0 <sup>a</sup>	7.44.5.7 <sup>a</sup>	0.84.1.4 <sup>a</sup>
	H3	0.04.0 <sup>a</sup>	35.04.0 <sup>a</sup>	21.94.18.1 <sup>a</sup>	17.84.11.7 <sup>a</sup>	19.34.11.5 <sup>a</sup>
	H4	11.14.12.6 <sup>a</sup>	17.14.4.9 <sup>a</sup>	14.04.3 <sup>a</sup>	18.54.9 <sup>a</sup>	0.04.0 <sup>a</sup>
	H5	6.74.5 <sup>ab</sup>	1.04.0 <sup>a</sup>	1.14.1.4 <sup>a</sup>	0.04.0 <sup>a</sup>	0.04.0 <sup>a</sup>
<i>Mentha piperita</i>	H1	26.14.4 <sup>a</sup>	28.34.4.2 <sup>a</sup>	31.74.0 <sup>a</sup> **	31.74.6 <sup>a</sup> **	33.84.3.0 <sup>a</sup> **
	H2	47.74.3 <sup>a</sup>	40.84.0 <sup>a</sup>	46.74.6 <sup>a</sup>	44.84.13.6 <sup>a</sup>	36.34.13.3 <sup>a</sup>
	H3	0.04.0 <sup>a</sup>	50.04.3 <sup>a</sup>	25.04.0 <sup>a</sup>	12.84.9 <sup>a</sup>	11.14.3.8 <sup>a</sup>
	H4	10.04.7 <sup>a</sup>	40.84.9 <sup>a</sup>	12.74.5 <sup>a</sup>	12.34.3 <sup>a</sup>	19.44.2.2 <sup>a</sup>
	H5	53.94.5 <sup>a</sup>	50.54.12.0 <sup>a</sup>	41.24.5 <sup>a</sup>	24.04.3 <sup>a</sup>	7.34.1 <sup>a</sup>

Los valores están expresados en porcentajes como la media  $\pm$  SD. Los valores seguidos de letras iguales en la misma columna no difieren significativamente entre sí (ANOVA,  $p < 0.05$ , Tukey's test).

De los componentes principales ensayados (1,8-cineol  $\alpha$ -pineno, citronelol, geraniol y mentol), geraniol resultó con el mayor actividad antifúngica y  $\alpha$ -pineno con menor actividad inhibitoria.

**Conclusiones.** *Dendroctonus mexicanus* es la especie de insecto descortezador predominante en los sitios de muestreo de los municipios de San Luis Teolocholco, San Marcos Contla y Papalotla en el estado de Tlaxcala. El AE de *S. rosmarinus* generó el mejor efecto atrayente a 0.55 mg/mL sobre *Dendroctonus* spp. El AE de *P. citrodorum* mostró el mayor efecto repelente a partir de 0.55 mg/mL. Para el efecto insecticida, el AE de *S. rosmarinus* exhibió la mayor actividad a partir de 5.51 mg/mL. El mejor efecto antifúngico lo mostró el AE de *P. citrodorum* a 441.5  $\mu$ g/mL, siendo el geraniol el de mayor actividad. Por tanto, los AE de *S. rosmarinus*, *P. citrodorum* y *M. piperita* presentan diferentes tipos de actividad biológica con relación al género *Dendroctonus* spp., y sus hongos asociados (insecticida, atrayente-repelente y antifúngico), lo cual está asociado a su diversidad en composición química de cada AE.

**Perspectivas.** Se realizará la identificación molecular de los hongos aislados. Se continuará con ensayos enzimáticos de inhibición de acetilcolinesterasa comercial y extracto enzimático crudo, empleando diferentes concentraciones de aceites esenciales y terpenos puros. Se continuarán las pruebas de atracción-repelencia, así como con los ensayos de actividad insecticida, para completar la evaluación del AE de menta. Se determinarán los valores de IC<sub>50</sub> respecto al potencial antifúngico de los AEs y los terpenos evaluados.

**Referencias**

- Huang, J.; Kautz, M.; Trowbridge, A.; Hammerbacher, A.; Raffa, K.; Adams, H. & Gershenson, J. 2020. Tree defense and bark beetles in a drying world: carbon partitioning, functioning and marking New Phytol., 225, pp. 26-36. 10.1111/nph.16173
- Vega, F. & Hofstetter R. 2015: Bark Beetles: Biology and Ecology of Native and Invasive Species, 1st ed. Elsevier, Academic Press, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, 640 pp. ISBN 9780124171565.

## ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE LA INTERACCIÓN ENTRE LA LEVADURA *Meyerozyma guilliermondii* LCBG-03 Y EL HONGO FILAMENTOSO *Penicillium digitatum* DURANTE EL FENÓMENO DE BIOCONTROL.

Eliud de la Cruz García, Claudia Patricia Larralde Corona\*, José Alberto Narváez Zapata.

Instituto Politécnico Nacional – Centro de Biotecnología Genómica, Blvd del Maestro esq. Elias Piña, C.P. 88700, Reynosa (Tam) México. E-mail: plarralde@ipn.mx

Palabras clave: Transcriptoma, *M. guilliermondii*, *P. digitatum*, biocontrol, interacción.

**Introducción.** Los frutos cítricos son muy susceptibles a ser infectados por fitopatógenos y se pueden contaminar a través de la cáscara en diferentes fases como en la recolección, el empaquetado, almacenamiento y transporte. Las principales enfermedades poscosecha en cítricos son moho verde, moho azul y podredumbre agria causadas por *Penicillium digitatum*, *P. italicum* y *Geotrichum citri-aurantii*, respectivamente. *P. digitatum* es el hongo causante de aproximadamente el 90 % de las pérdidas poscosecha en cítricos. (7). El término biocontrol se refiere al uso de organismos vivos o productos derivados de ellos para controlar poblaciones de plagas o patógenos. En años recientes, diversas técnicas de biocontrol han sido ampliamente aplicadas para controlar fitopatógenos. Los principales mecanismos de acción son competencia por nutrientes y espacio con los patógenos, producción de compuestos antimicrobianos que inhiben su crecimiento o inducir respuestas de defensa en las plantas hospedadoras (4). La levadura *M. guilliermondii* tiene el potencial para ser utilizada para el control de enfermedades en plantas, debido a que es capaz de colonizar los tejidos de los frutos sin causar lesiones necróticas (3) y ha sido reportada con actividad antifúngica en contra de numerosos hongos fitopatógenos.

Cuadro 1. Cepas de *M. guilliermondii* con control exitoso de enfermedades poscosecha de frutos (Tomado y adaptado de 8)

Cepa	Enfermedad/ Patógeno	Fruto	Referencia
M1	Antracnosis/ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Mango	(2)
2.1801	Pudrición negra/ <i>Alternaria alternata</i>	Tomate	(11)
32,333	Moho azul/ <i>P. expansum</i>	Durazno	(10)
33,333	Moho gris/ <i>Botrytis cinerea</i>	Manzana	(9)
Z1	Moho azul/ <i>P. italicum</i>	Naranja	(5)
Z1	Moho verde/ <i>P. digitatum</i>	Naranja	(6)
KL3	Moho verde/ <i>P. digitatum</i>	Limón	(1)

**Planteamiento del problema.** A pesar de que ya hay muchas investigaciones sobre el biocontrol de fitopatógenos aún existe una falta de información sobre los mecanismos moleculares involucrados en la interacción patógeno/antagonista durante el fenómeno de biocontrol y futuros análisis del transcriptoma son necesarios para entender cómo actúan los agentes de biocontrol.

**Justificación.** El análisis del transcriptoma proporciona una visión detallada de los genes que se expresan en un organismo en un momento dado. Esto puede utilizarse para identificar genes que están involucrados en la interacción entre el patógeno y el antagonista. En este proyecto, se propone utilizar el análisis del transcriptoma para investigar los mecanismos moleculares de *M. guilliermondii*, un microorganismo con capacidad de biocontrol de fitopatógenos. *M. guilliermondii* es un candidato prometedor para el biocontrol de una variedad de patógenos, pero se sabe muy poco sobre los mecanismos moleculares que están detrás de su actividad. Es por eso que se analizará el transcriptoma de la cepa LCBG-03 de *M. guilliermondii* al durante la interacción con el hongo fitopatógeno *P. digitatum*. Esta información podría utilizarse para desarrollar nuevas estrategias de biocontrol basadas en *M. guilliermondii*.

**Objetivo general.** Realizar un análisis transcriptómico para comprender la interacción entre la levadura *Meyerozyma guilliermondii* LCBG-03 y el hongo filamentoso *Penicillium digitatum* durante el fenómeno de biocontrol.

### Objetivos particulares.

- Realizar ensayos in vitro de la levadura *Meyerozyma guilliermondii* y el hongo filamentoso *Penicillium digitatum* para investigar la dinámica de la interacción entre la levadura y el hongo durante el fenómeno de biocontrol.
- Extraer el RNA de las muestras co-cultivadas en diferentes momentos y condiciones de la interacción
- Realizar análisis transcriptómico utilizando RNA-seq para identificar los perfiles de expresión génica de la levadura y el hongo durante la interacción
- Realizar análisis bioinformáticos para identificar y caracterizar los genes diferencialmente expresados en la levadura y el hongo durante el fenómeno de biocontrol.

### Estrategia metodológica.

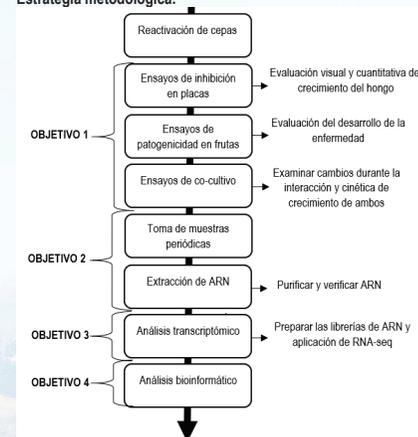


Figura 1. Estrategia metodológica del proyecto

**Resultados esperados.** Se espera descubrir los cambios en el transcriptoma de la levadura *M. guilliermondii* LCBG-03 cuando interactúa con el hongo *P. digitatum* y así conocer los mecanismos moleculares involucrados en su capacidad de biocontrol.

### Referencias.

- Agirman, B & Erten, H. (2020). Biocontrol ability and action mechanisms of *Aureobasidium pullulans* GE17 and *Meyerozyma guilliermondii* KL3 against *Penicillium digitatum* DSM2750 and *Penicillium expansum* DSM62841 causing postharvest diseases. *Yeast*, 37(9-10), 437-448.
- Chen, M; Gao, YK; Song, HC; He, S; Zhang, R; Zhong, L & Shi, X. (2016). Control of postharvest anthracnose of mango fruit by combining yeast *Meyerozyma guilliermondii* with calcium chloride. *J. Food Science*, 37, 204-209.
- Infante, EP; Marquinez, X; & Moreno, G. (2012). Tomato peel (*Solanum lycopersicum* L.) colonization by the endophyte yeast *Candida guilliermondii* (Castellani) Langeron et Guerra. *Agron. Colomb*, 30(3), 388-394.
- Lahlali, R; Ezrari, S; Radouane, N; Kenfaoui, J; Esmael, Q; El Hamss, H; Belabess, Z; Barka, EA. (2022). Biological Control of

Plant Pathogens: A Global Perspective. *Microorganisms*, 10(3), 596.

- Lahlali, R; Hamadi, Y; & Jijakli, M. H. (2011). Efficacy assessment of *Pichia guilliermondii* strain Z1, a new biocontrol agent, against citrus blue mould in Morocco under the influence of temperature and relative humidity. *Biol. Control*, 56, 217-224.
- Lahlali, R; Hamadi, Y; El Guilli, M; & Jijakli, M. H. (2014). The ability of the antagonist yeast *Pichia guilliermondii* strain Z1 to suppress green mould infection in citrus fruit. *Ital. J. Food Saf.*, 3(4).
- Moraes Bazioli, J; Belinato, JR; Costa, JH; Akiyama, DY; De Moraes Pontes, JG; Kupper, KC; Augusto, F; de Carvalho, JE; Fill, TP. (2019). Biological Control of Citrus Postharvest Phytopathogens. *Toxins*, 11(8), 460.
- Yan, W; Gao, H; Qian, X; Jiang, Y; Zhou, J; Dong, W; Xin, F; Zhang W, Jiang, M. (2021). Biotechnological applications of the non-conventional yeast *Meyerozyma guilliermondii*. *Biotechnol. Adv.*, 46, 107674.
- Zhao, Y & Yin, J. (2018). Effects of *Pichia guilliermondii* and hot air treatment on the postharvest preservation of red Fuji apple quality attributes. *J. Food Prot.*, 81(2), 186-194.
- Zhao, Y; Li, Y & Zhang, B. (2020). Induced resistance in peach fruit as treated by *Pichia guilliermondii* and their possible mechanism. *Int. J. Food Prop.*, 23(1), 34-51.
- Zhao, Y; Tu, K; Su, J; Tu, S; Hou, Y; Liu, F & Zou, X. (2009). Heat Treatment in Combination with Antagonistic Yeast Reduces Diseases and Elicits the Active Defense Responses in Harvested Cherry Tomato Fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 57(16), 7565-7570.

## ANÁLISIS VOLATILÓMICO, TRANSCRIPTÓMICO Y METABOLÓMICO DE LA INTERACCIÓN DE LA HORMIGA DE FUEGO (*Solenopsis geminata*) SOBRE PLANTAS DE CHILE MANZANO (*Capsicum pubescens*).

Wendy Abril Coyotl Pérez, Flor de Fátima Rosas Cárdenas\*, Nemesio Villa Ruano\*, Silvia Luna Suárez.  
[rosas@ipn.mx](mailto:rosas@ipn.mx); [necho82@yahoo.com](mailto:necho82@yahoo.com)

Palabras clave: *Semioquímicos, hormiga de fuego, mecanismos de defensa, chile manzano, SPME.*

**Introducción.** El chile es una famosa especie vegetal consumida en todo el mundo por el contenido nutricional (2). *Capsicum pubescens* conocido como chile manzano es una especie cultivada en Yaonáhuac, Puebla. Sin embargo, la producción se ha visto afectada por diversos agentes como la infestación por la hormiga de fuego. Esta hormiga ha sido catalogada como altamente agresiva por los reportes de daño en cultivos agronómicos (3). Para hallar una alternativa de control de esta hormiga es necesario conocer las alteraciones bioquímicas que genera a nivel fisiológico de la planta. Es por ello que el objetivo es caracterizar los cambios producidos por la infestación de *S. geminata* en plantas de *C. pubescens* a través de un abordaje volatilómico, transcriptómico y metabolómico.

**Metodología.** Semillas de *C. pubescens* fueron germinadas en andosol de la zona productora de chile localizada en Yaonáhuac, Puebla. Se realizó la identificación molecular de la hormiga. Para la parte del análisis volatilómico, se utilizaron 6 plantas de chile manzano como grupo control, 6 plantas infestadas con 200 hormigas obreras de *S. geminata* y 6 réplicas de volátiles de las hormigas. La determinación de volátiles a las 24 h se realizó por SPME (4). Los resultados fueron sometidos a análisis estadístico con el programa SIMCA versión 18.0.0. Para el análisis del transcriptoma de plantas infestadas y no infestadas, se procederá a la construcción de bibliotecas de cDNA. Se utilizarán softwares como Illumina MiSeq, PRINSEQ 0.20.3, Trinity versión 20121005 y la versión 1.2.0 del software RSEM. Por otro lado, el análisis metabolómico primario será por GC-MS determinará los cambios en la proporción de metabolitos presentes en ambos tratamientos. Los resultados serán sometidos a análisis estadístico con el programa SIMCA.

**Resultados y discusión.** Se obtuvo la identificación de *Solenopsis geminata* con 95% y 93% de homología con las secuencias OQ672912.1 y KT200380.1 del NCBI. Por otra parte, el análisis volatilómico de los tres tratamientos arrojó un total de 68 compuestos volátiles orgánicos que en su mayoría son terpenos (monoterpenos, triterpenos y sesquiterpenos). Además de la presencia de ésteres, esteroides, aldehídos, fenilpropanoides y ácidos grasos. Los cromatogramas de los tres tratamientos presentan diferencias entre sí. En base a lo anterior, Los compuestos volátiles orgánicos hallados en el perfil volatilómico como  $\alpha$ -humuleno,  $\gamma$ -muuroloeno,  $\alpha$ -muuroloeno, calameno,  $\alpha$ -himacaleno,  $\alpha$ -cubebeno,  $\alpha$ -longipineno y nerodiol también se encontraron en los frutos de *C. annum*, *C. chinense* y *C. frutescens* (4). En base a esto podría mencionarse que son COVs pertenecientes al género *Capsicum*. Así mismo, el longifoleno es el compuesto mayoritario característico de dar el aroma a herbáceo. Cabe destacar que en las plantas infestadas con *S. geminata* se observó la presencia de ácidos grasos como el ácido

oleico y palmítico. Sin embargo, en el volatiloma de las hormigas solo se hallaron tres compuestos destacando al 1-Docoseno como principal compuesto mayoritario. Si bien se han reportado compuestos catalogados como metilalcanos, no son los mismos que los hallados en este trabajo. Lo anterior difiere debido a la población de hormigas que se analice, su dieta, hábitat entre otros factores (1). Se realizó un análisis multivariado con el propósito de explorar los cambios en el perfil volatilómico de las plantas de chiles manzano infestadas por *S. geminata*, así como los COV emitidos por las hormigas obreras de esta población. El modelo OPLS-DA (Figura 1) obtenido con los datos del volatiloma de hormigas, plantas de chile manzano sanas e infestadas presenta una notable separación entre grupos y con altos valores estadísticos  $R^2X = 0.766$ ,  $R^2Y = 0.99$ ,  $Q^2 = 0.852$ . En este modelo, se utilizaron proyecciones en dos dimensiones (PC1 = 42.7% y PC2 = 17.1%) para mostrar una clara separación entre los grupos. Además, se calculó el p-valor mediante un en el test ANOVA ( $p = 1.85884e-09$ ), estos resultados reflejan la validez del modelo estadístico.

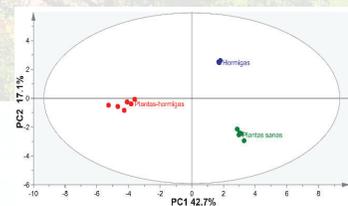


Figura 1. Score plot correspondiente al modelo OPLS-DA.

El diagrama de cargas del modelo OPLS-DA (Figura 2) nos indica los metabolitos diferenciales entre los grupos de estudio. 1-Docoseno se encuentra en mayor concentración en el grupo de las hormigas en comparación con los otros compuestos presentes en el grupo. Para el grupo de plantas sanas se observa dimetoxibenzeno y  $\alpha$ -longipineno como aquellos compuestos diferenciales dentro del mismo grupo. Mientras que en el grupo de las plantas infestadas con hormigas se observa que el ácido oleico, palmítico, dodecanoico y Z-8-metil-9-ácido tetradecenoico son aquellos que se encuentran en mayor concentración.

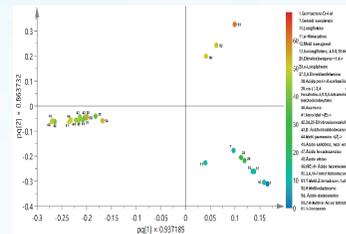


Figura 2. Diagrama de cargas del modelo OPLS-DA. La escala de colores representa el valor de la variable de importancia de proyección (VIP) de los metabolitos con una mayor contribución del modelo OPLS-DA.

Por ende, las rutas metabólicas que se ven afectadas por la presencia de hormigas en plantas de chile manzano son la biosíntesis de ácidos grasos, biosíntesis de ácidos grasos insaturados, biosíntesis de cutina, suberina y cera, biosíntesis de sesquiterpenoides y triterpenoides (Figura 3).

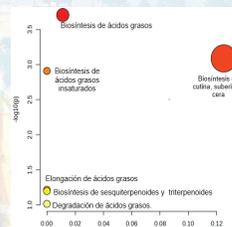


Figura 3. Gráfico de correlación de significancia en la afectación de la ruta metabólica obtenidos con el módulo Pathway Analysis del programa MetaboAnalyst 4.0.

**Conclusiones y perspectivas.** Con base en lo anterior, se concluye que la volatilómica por SPME-GC-MS es una herramienta útil para la identificación y cuantificación de los metabolitos relacionados con la infestación de hormigas en plantas de chile manzano, así como las rutas metabólicas involucradas en esta infestación. Si bien, se espera que los resultados de transcriptómica y metabolómica arrojen información que complemente los datos presentados como mecanismos de defensa.

**Agradecimientos.** CONAHCyT por la beca otorgada, a DITCo-BUAP y a SIP por la beca Beifi otorgada.

### Referencias.

- Hu, L., Vander-Meer, R., Porter, S. D. & Chen, L. 2017. Cuticular hydrocarbon profiles differentiate tropical fire ant populations (*Solenopsis geminata*, *Hymenoptera: Formicidae*). *Chemistry and Biodiversity* 14(1):e1700192. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700192>
- Mendes, N. S., Coimbra, P. P. S., Santos, M. C. B., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L., Buera, M. P. & Gonçalves, E. C. B. A. 2020. Capsicum pubescens as a functional ingredient: microencapsulation and phenolic profiling by UPLC-MS. *Food Research International* 135:109292. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109292>
- Nalini, T. & Sasinathan, S. 2019. First record on incidence of tropical fire ant *Solenopsis geminata* (Fabricius) (*Hymenoptera: Formicidae*) in agricultural ecosystems from Tamil. *Ecology, Environment and Conservation* 25:194-199.
- Rodríguez-Burruero, A., Kollmannsberger, H., González-Mas, M., Nitz, S. & Nuez, F. 2010. SPME comparative analysis of genotypic diversity in the volatile fraction and aroma-contributing compounds of *Capsicum* fruits from the *annuum-chinense-frutescens* complex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:4388-4400.

## FORMULACIÓN DE NANOEMULSIONES DE EXTRACTOS DE RESIDUOS FORESTALES PARA EL CONTROL DE FITOPATÓGENOS DEL CULTIVO DE MAÍZ

Teresa Guadalupe Vargas Mendieta, \*Blanca Estela Barragán Huerta, \*Paulina Gutiérrez Macías

Laboratorio de Residuos Peligrosos, Departamento de Ingeniería en Sistemas Ambientales, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.  
Av. Wilfrido Massieu 399, Nueva Industrial Vallejo, Gustavo A. Madero, 07738 Ciudad de México, CDMX. Teléfono: 55 57296300, Ext 57627 [bbarraga59@yahoo.com](mailto:bbarraga59@yahoo.com), [pquiterizm.ipn@gmail.com](mailto:pquiterizm.ipn@gmail.com)

Palabras clave: Nanoemulsiones, *Tectona grandis*, *Dalbergia congesiflora*, *Peltogyne mexicana*, fitopatógenos, *Fusarium sp.*, maíz.

**Introducción.** A lo largo del tiempo, el control y combate de plagas y enfermedades que afectan a los cultivos en el sector agrícola, ha representado una búsqueda constante en cuanto a soluciones se refiere. Se estima que la pérdida de cultivos, causada por enfermedades de fitopatógenos o plagas, ha alcanzado hasta un 50%, representando así una problemática de gran importancia a nivel mundial. En México uno de los cultivos de mayor reconocimiento a nivel cultural y económico es el cultivo del maíz, el cual se ha visto afectado con el pasar de los años por múltiples microorganismos de tipo fitopatógeno. Actualmente, el control de ese tipo de plagas, ha sido atacado principalmente por medio de plaguicidas sintéticos, los cuales han generado problemáticas ambientales, intoxicación en los seres humanos, resistencia de los microorganismos patógenos, entre otras más, comprometiendo la seguridad alimentaria (4). Ante lo anterior, se ha continuado con la búsqueda del estudio de estrategias biotecnológicas que representen una opción segura y sustentable, que no afecten la viabilidad de las semillas ni las cualidades alimenticias del cultivo tratado. Para esto, una de las alternativas propuestas es el desarrollo de nanoformulaciones de extractos naturales con amplio espectro de actividad antimicrobiana (1).



Figura 1. *Fusarium verticillioides*. Principal hongo fitopatógeno que afecta a los cultivos del maíz. Se puede observar a nivel macroscópico en colonias y por microscopía (2).

**Planteamiento del problema.** Actualmente, dentro del sector agrícola, la principal vía de control de microorganismos que afectan a los cultivos, por ejemplo, del maíz, es el uso de plaguicidas sintéticos como el Captan, Quintozeno, Fludioxonil + Metalaxil-M, Difenconazole, Carboxin + Thiram, desencadenando a su vez otras problemáticas de importancia ambiental y sanitaria.

**Justificación.** Debido a la importancia de la agricultura para proporcionar alimentación básica y de calidad a la población y ser por ello pilar fundamental en crecimiento económico del país, es importante desarrollar tecnologías que puedan sustituir al control químico de plagas, de manera segura y amigable, tanto para el ambiente como para los humanos, además de que no afecten la viabilidad de las semillas ni las cualidades alimenticias del cultivo tratado. Es por eso que el presente trabajo propone el desarrollo de una tecnología que involucre el aprovechamiento de la actividad antimicrobiana de extractos provenientes de residuos forestales para la formulación y desarrollo de nanoemulsiones. Se ha demostrado que los residuos forestales de *Tectona grandis*, *Dalbergia congesiflora* y *Peltogyne mexicana*, presentan una importante actividad antimicrobiana, que resulta útil como control biológico de enfermedades por plagas o ataque de fitopatógenos a los cultivos de este sector.

**Objetivo general.** Desarrollar la formulación de nanoemulsiones a partir de extractos de residuos forestales para su posterior utilización en el control de fitopatógenos del cultivo de maíz como un bioplaguicida.

### Objetivos particulares.

- Evaluar la actividad antimicrobiana de extractos de residuos forestales (*Tectona grandis*, *Dalbergia congesiflora*, *Peltogyne mexicana*) mediante cultivos en placa de *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani* y *Curvularia lunata* para determinar el valor de la concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>).
- Caracterizar el perfil fitoquímico de los extractos seleccionados mediante análisis cromatográfico HPLC.
- Formular y desarrollar nanoemulsiones del extracto seleccionado con mejor actividad antimicrobiana mediante un diseño estadístico Box-Behnken.
- Caracterizar y evaluar la estabilidad de las nanoemulsiones en función de la presencia de luz, cambios de temperatura y de metales.
- Evaluar la capacidad antimicrobiana de las nanoemulsiones obtenidas de residuo forestal frente al crecimiento de diferentes hongos fitopatógenos de *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani* y *Curvularia lunata*, en cultivos de maíz.

**Resultados esperados.** Obtener una formulación de nanoemulsiones elaboradas a partir de extractos de residuos forestales, que sea estable a diferentes condiciones de temperatura, luz y que contenga una alta actividad antimicrobiana, por lo que sea posible su uso como control biológico de fitopatógenos, abarcando un espectro amplio de especies de estos microorganismos, así como de tipos de cultivos en los que se pueda emplear. Representando así una opción viable que pueda sustituir a un antimicrobiano sintético.

### Referencias.

- Mishra, P; Tyagi, BK, Mukherjee, A; Chandrasekaran, N. 2019. Potential application of nanopesticides to pest control in the food and agriculture sector. 493-509. En: CRC Press. Food Applications of Nanotechnology. Primera edición. EUA.
- Pitt, JI. 2014. Mycotoxins: 299-303. En Reference Module in Food Science. Encyclopedia of Food Safety. EUA.
- Serrano, L; Galindo, E. 2007. Control biológico de organismos fitopatógenos: un reto multidisciplinario. *Ciencia*. Academia Mexicana de Ciencias, 58.
- Villavicencio-Nieto, MA; Pérez-Escandón BA; Gordillo-Martínez AJ. 2010. "Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en estado de Hidalgo, México". *Pollibotánica*, 30: 193-238.

### Estrategia metodológica.

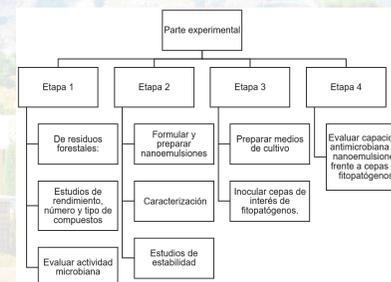


Figura 2. Diagrama general de trabajo. Se organizó por cuatro etapas en general, dentro de las cuales se consideran subactividades de relevancia en el estudio.

Cuadro 1. Serie de técnicas empleadas hoy en día a diferentes niveles para el control de plagas (3)

Técnica del manejo integrado de plagas
Prácticas culturales
Manejo de factores fisicoquímicos
Rotación de cultivos
Control físico
Solarización
Trampas físicas
Control químico
Plaguicidas selectivos
Hormonas, Feromonas
Control biológico
<b>Bioplaguicidas (nanoemulsiones)</b>

## ESTUDIO DE LOS COMPONENTES DE *Hamelia patens* SOBRE *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*: UN ABORDAJE METABOLÓMICO Y PROTEÓMICO

Daniel Jafet Valle Ortiz, Fabiola Eloisa Jiménez Montejo\*, Martha Rosales Castro, María del Carmen Cruz López, Diana Verónica Cortés Espinosa, Aaron Mendieta Motezuma

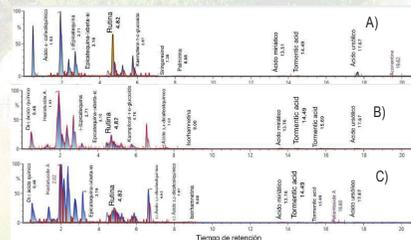
Autor de correspondencia: [fajimenezm@ipn.mx](mailto:fajimenezm@ipn.mx); Teléfono: +52 5533245712

**Palabras clave:** *Hamelia patens*, *Fusarium oxysporum*, metabolómica, proteómica

**Introducción.** *Fusarium oxysporum* es un microorganismo fitopatógeno que puede causar diversas enfermedades, como marchitez, antracnosis, tizonas y pudriciones, provocando pérdidas de hasta el 60% de la producción agrícola (3). Se han realizado esfuerzos para inhibir su desarrollo sin causar efectos nocivos para la salud humana o el medio ambiente. *Hamelia patens* es una planta capaz de producir metabolitos secundarios que constituyen una importante fuente de microbicidas, plaguicidas y fármacos, pero existen pocos estudios que describan su efecto sobre los hongos. Se sabe que algunos de los principales componentes de la pared celular fúngica son la quitina y los  $\beta$ -1,3 glucanos y las enzimas encargadas de sintetizar estos componentes son la quitinasa y la  $\beta$ -1,3 glucanasa, respectivamente (1). Por otra parte, *F. oxysporum* produce diversos metabolitos y proteínas capaces de fragmentar polisacáridos de la pared celular y con esto beneficiar el proceso de infección en tejidos vegetales. Actualmente, existen diversas técnicas que permiten identificar y caracterizar un gran número de proteínas y metabolitos secundarios presentes en un organismo. Derivado de esto, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de extractos de *H. patens* sobre el desarrollo de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* mediante un análisis composicional para disponer de elementos dirigidos a un estudio metabolómico y proteómico.

**Metodología.** Este proyecto está conformado por cuatro etapas experimentales. En la primera etapa se evaluaron diferentes métodos de extracción de metabolitos secundarios presentes en hojas y flores de *H. patens*: maceración continua (MC; disolventes: hexano, diclorometano y metanol), maceración total (MT; disolvente: metanol) y maceración total asistida con ultra sonicación (MS; disolvente: metanol). Se comparó la diferencia entre los constituyentes de los extractos obtenidos mediante técnicas colorimétricas y cromatografía de líquidos de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas (UHPLC-MS). En la segunda etapa se realizó una valoración del efecto antifúngico con diferentes concentraciones (10, 20, 30, 40 y 50 mg/ml) de los extractos obtenidos sobre *F. oxysporum*; después se eligió al extracto que presentó el mayor porcentaje de inhibición y se continuó con la búsqueda de la concentración mínima inhibitoria (CMI) utilizando el método de dilución en placa. En la tercera etapa se evaluó el efecto del extracto elegido sobre la pared celular del microorganismo, donde se cuantificará la actividad de las enzimas  $\beta$ -1,3 glucanasa y quitinasa. En la cuarta etapa se realizará un análisis de las proteínas y metabolitos secundarios de *F. oxysporum* después de someterlo a diferentes concentraciones del extracto de *H. patens*.

**Resultados y discusión.** El perfil fitoquímico de los extractos de hojas y flores de *H. patens* mostró que el extracto metanólico de hojas obtenido por maceración continua (CMH) fue el que presentó la mayor concentración de componentes bioactivos, destacando los compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides con 195 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto, 789 mg equivalentes de diosgenina/g de extracto y 0.37 mg equivalentes de gramina/g de extracto respectivamente. La Figura 1 muestra los cromatogramas de los metabolitos identificados en los extractos obtenidos por maceración metanólica continua de hojas (CMH) y flores (CMF) y extracción metanólica total en flores (MTF). Se identificaron doce compuestos diferentes en los tratamientos. El ácido 4-cafeoilquinico y siringaresinol estuvieron presentes únicamente en el tratamiento CMH; la hastulidina A y la isorhamnetina se mostraron en los extractos de flores CMF y MTF. Los compuestos fenólicos presentes en los tres extractos fueron la rutina, la epicatequina y el ácido quínico. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Paz et al. (2018) (4) quienes mencionan que la composición de los extractos de *H. patens* dependerá del método de extracción y la parte de la planta utilizada, al reportar la presencia de ácido quínico y catequina en los extractos de hojas obtenidos por tres métodos diferentes de extracción.



**Figura 1.** Cromatogramas UHPLC de los extractos. A) Extracto de hojas obtenido por maceración consecutiva con metanol (CMH) B) Extracto de flores obtenido por maceración consecutiva con metanol (CMF) C) Extracto de flores obtenido por maceración total con metanol (MTF)

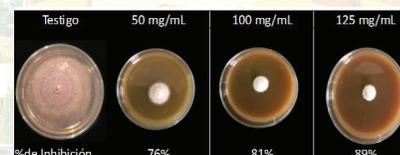
El cuadro 1 muestra el efecto antifúngico de los extractos de hojas y flores obtenidos de la fase anterior sobre *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Se observa un efecto dosis/respuesta al incrementar la concentración de los extractos. El tratamiento MCH presentó los

resultados más favorables al inhibir 76.4% del crecimiento del microorganismo a una concentración de 50 mg/ml. Dado lo anterior se eligió este extracto para continuar con las otras etapas experimentales. Al incrementar la concentración de extracto a 125 mg/ml se logró una inhibición máxima de 89%. (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Efecto antifúngico de los extractos de hojas y flores de *H. patens* obtenidos por diferentes métodos de extracción

	(mg/ml)												% de inhibición											
	HXH	HXF	DCH	DCF	MCH	MCF	MSH	MSF	MTH	MTF	HXH	HXF	DCH	DCF	MCH	MCF	MSH	MSF	MTH	MTF				
10	9.1	5.6	6.5	26.3	14.4	10.2	26.5	4.6	7.2	3.8	$\pm 0.9$	$\pm 0.8$	$\pm 0.6$	$\pm 0.5$	$\pm 0.4$	$\pm 0.3$	$\pm 0.5$	$\pm 0.5$	$\pm 0.7$	$\pm 0.6$				
20	9.5	6.8	17.1	27.7	33.0	12.5	29.9	9.1	15.2	5.3	$\pm 0.5$	$\pm 0.9$	$\pm 0.5$	$\pm 0.9$	$\pm 0.5$	$\pm 0.4$	$\pm 0.5$	0.8	$\pm 0.8$	$\pm 0.6$				
30	13.6	7.5	22.8	35.5	41.3	13.2	31.0	9.9	26.7	8.7	$\pm 0.9$	$\pm 0.4$	$\pm 0.9$	$\pm 1.0$	$\pm 0.4$	$\pm 0.9$	$\pm 0.9$	$\pm 0.9$	$\pm 0.8$	$\pm 0.5$				
40	14.8	9.6	38.2	41.6	51.5	14.4	44.7	16.3	31.6	11.0	$\pm 0.8$	$\pm 0.3$	$\pm 0.8$	$\pm 1.1$	$\pm 0.8$	$\pm 0.7$	$\pm 1.2$	$\pm 0.7$	$\pm 0.9$	$\pm 0.6$				
50	20.5	11.0	40.4	47.4	76.4	56.1	74.6	53.8	69.8	52.3	$\pm 0.7$	$\pm 0.5$	$\pm 0.9$	$\pm 1.5$	$\pm 0.8$	$\pm 1.4$	$\pm 1.1$	$\pm 1.1$	$\pm 1.5$	$\pm 1.0$				

HXH: Maceración continua con hexano en hojas; HXF: Maceración continua con hexano en flores; DCH: Maceración continua con cloruro de metileno en hojas; DCF: Maceración continua con cloruro de metileno en flores; MCH: Maceración continua con metanol en hojas; MCF: Maceración continua con metanol en flores; MSH: Maceración total asistida con sonicación en hojas; MSF: Maceración total asistida con sonicación en flores; MTH: Maceración total en hojas; MTF: Maceración total en flores



**Figura 1.** Efecto antifúngico del extracto MCH de *H. patens* sobre *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

Esta inhibición puede estar relacionada con la presencia de los componentes activos en el extracto como alcaloides y compuestos fenólicos. De acuerdo con algunos autores, estos compuestos podrían causar lisis de la pared celular fúngica, ya que pueden actuar sobre las enzimas líticas de las células fúngicas, provocando la ruptura de las cadenas de  $\beta$ -1,3 glucanos,  $\beta$ -1,6 glucanos y de quitina. Por otra parte, podrían actuar sobre la membrana citoplásmica, alterando su estructura, causando hinchamiento y muerte celular; bloqueando la síntesis de membrana; inhibición de la germinación de esporas, proliferación fúngica y respiración celular (2).

**Conclusiones.** La evaluación de diferentes métodos de extracción de metabolitos secundarios de *Hamelia patens* reveló que la maceración continua con metanol en hojas (MCH) produjo el extracto con la mayor cantidad de metabolitos. El análisis de cromatografía de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas identificó compuestos fenólicos como la rutina y el ácido quínico, así como alcaloides, incluyendo la palmirina. Por otra parte, los ensayos de inhibición de crecimiento en *Fusarium oxysporum* mostraron que el extracto MCH exhibió el mayor porcentaje de inhibición. Esto lo relacionamos con la abundancia de compuestos fenólicos presentes en el extracto.

**Perspectivas.** Estos resultados respaldan la importancia de investigar con mayor detalle el potencial de *Hamelia patens* en el control de patógenos fúngicos. Como próxima etapa, se planea evaluar el efecto del extracto MCH sobre las enzimas de la pared celular de *Fusarium oxysporum*. Esto permitirá una comprensión más profunda de los mecanismos de acción de los compuestos presentes en el extracto. Además, se realizarán estudios de proteómica y metabolómica en este microorganismo cuando se exponga al extracto de *Hamelia patens* para comprender mejor los mecanismos subyacentes. El análisis proteómico permitirá detectar y cuantificar las proteínas que experimentan cambios en su expresión o actividad en respuesta al extracto, mientras que el estudio de metabolómica proporcionará información sobre el efecto en las vías metabólicas.

**Agradecimientos.** Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico y a la Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN.

### Referencias.

- Curto, M. Á., Butassi, E., Ribas, J. C., Svetaz, L. A., & Cortés, J. C. (2021). Natural products targeting the synthesis of  $\beta$  (1,3)-D-glucan and chitin of the fungal cell wall. Existing drugs and recent findings. *Phytomedicine*, 153556.
- Dheeb, B. I. 2015. Antifungal Activity of Alkaloids and Phenols Compounds extracted from black pepper *Piper nigrum* against some pathogenic fungi. *Journal of Biotechnology Research Centre*, 9(2), 46-54.
- Ma, L., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., Kazan, K. (2013). *Fusarium* pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, 67(1), 399-416. doi:10.1146/annurev-micro-092412-155650.
- Paz, J. E. W., Contreras, C. R., Munguía, A. R., Aguilar, C. N., & Inunagay, M. L. C. (2018). Phenolic content and antibacterial activity of extracts of *Hamelia patens* obtained by different extraction methods. *Brazilian journal of microbiology*, 49, 656-661.

## CONTROL BIOLÓGICO DE *Gloveria* spp. PACKARD 1872 (LEPIDOPTERA: LASIOCAMPIDAE) EN BOSQUES DE LA UMAFOR 1008, DURANGO

Mayra Amezcua Rojas, María Berenice González Maldonado\*  
Número telefónico director: 618804785, Correo electrónico: mbgonzalez@ipn.mx.

Palabras clave: *Gloveria* spp, hongos entomopatógenos, parasitoides

**Introducción.** El control biológico de plagas consiste en el uso de enemigos naturales y microorganismos para el control de poblaciones de insectos [1]. Una de las principales plagas importantes en México son los defoliadores de los pinos que llegan a ocasionar daños como, el debilitamiento de los árboles hospederos o la reducción del crecimiento en diámetro y altura del 45 al 70% [2], [3]. Tal es el caso de *Gloveria* spp comúnmente conocidos como gusanos de bolsa que en años recientes se ha observado en el arbolado del género *Pinus*, con evidencias de daños en algunas zonas de los bosques de la UMAFOR 1008. Por lo anteriormente descrito, el objetivo de este estudio identificar agentes de control biológico *in vitro* mediante el aislamiento de hongos entomopatógenos nativos y el uso de enemigos naturales (parasitoides) para *Gloveria* spp. Aislados en bosques naturales del Ejido Nueva Patria, Durango. Además, identificar la especie del género *Gloveria* que se encuentra presente en estos bosques. Aunado a esto, realizar una evaluación de daños para obtener información que sirva como base para conocer su biología, ciclo de vida y hábitos para probar la efectividad de estos agentes como un bioinsecticida específico para esta especie.

**Metodología.** El estudio se llevará a cabo en los bosques de la UMAFOR 1008 ubicado al Suroeste del Estado de Durango. Se seleccionó el Ejido Nueva Patria ya que en este se encuentra presencia de brotes de *Gloveria* spp., reportados por personal de la unidad de manejo forestal 1008 y por ejidatarios de este predio. Se establecerán 16 sitios de 15 metros de radio (área = 700 m<sup>2</sup>). Las variables que se tomarán en cuenta para estimar el porcentaje de árboles dañados por plagas y determinar las especies forestales afectadas en el área de estudio serán: Especie de pino, la altura, diámetro, cobertura de copas, porcentaje de defoliación del árbol, o transparencia de la copa, así mismo se contará el número de bolsas de seda encontradas por copa (que contengan la plaga). Para evaluar la defoliación, se utilizará una escala cualitativa, propuesto por [4]. En cada sitio se realizarán colectas de insectos por el método de muestreo directo, Las muestras serán llevadas al Laboratorio de Entomología del CIIDIR-IPN Unidad Durango, para el establecimiento de una cría con el fin de determinar parasitismo en campo, porcentaje y ciclo de vida. Para identificar al insecto-plaga, se utilizarán especímenes de la etapa adulta, se utilizarán claves taxonómicas para determinar el género y la especie. También se realizará la comparación de especímenes con colecciones de referencia, así como apoyo con taxónomos expertos: Identificación de especies (Colegio de Posgraduados). La identificación molecular se realizará utilizando análisis de secuencias del gen del citocromo oxidasa c región I. También se colectarán muestras de suelo por el

método cinco de oros para aislar hongos entomopatógenos, con ayuda de insectos trampa. Los insectos micosados se aislarán por diversas técnicas con la finalidad de obtener cultivos puros, posteriormente, se realizarán bioensayos de toxicidad con larvas del 2do estadio de desarrollo de *Gloveria* spp., con diferentes dosis de esporas de HE, se registrará el porcentaje de mortalidad a las 24, 48h, se determinarán sus dosis letales.

**Resultados y discusión.** Se encontraron tres especies del género *pinus* en el área de estudio, siendo la especie *Pinus leiophylla* la más abundante, también se encontraron especies de los generos *Quercus* y *Arbutus*, cuadro 1.

Cuadro 1. Especies arbóreas presentes en el área de estudio.

Especie	N
<i>Pinus leiophylla</i>	256
<i>Pinus engelmannii</i>	116
<i>Pinus strobiformis</i>	2
<i>Quercus spp</i>	116
<i>Arbutus spp</i>	15
Entre grupos	505

Las características generales del arbolado en el área de estudio según el muestreo realizado fueron: Diámetro promedio de 20.27 cm, con una altura de 10.84 m y una edad promedio de 52.62 años, tabla 2.

Cuadro 2. Variables dendrométricas de las especies arbóreas presentes en el área de estudio.

Variables	N° de arboles	Media	Desviación estándar
Diámetro Normal (cm)	505	20.27	10.20
Altura (m)	505	10.84	6.61
Cobertura de Copas (cm)	505	1.89	2.37
Edad (años)	48	52.62	15.33

**Presencia de *Gloveria* spp. por especie:** El 99% de árboles con presencia de *Gloveria* spp., pertenecen a *Pinus leiophylla* por lo cual

se considera que este es su principal hospedero, en las otras especies de pinos, solo se encontró un árbol de la especie *Pinus strobiformis* con presencia de una bolsa, mientras que en *Pinus engelmannii* no se encontró ningún árbol con presencia de *Gloveria* spp. figura 1.

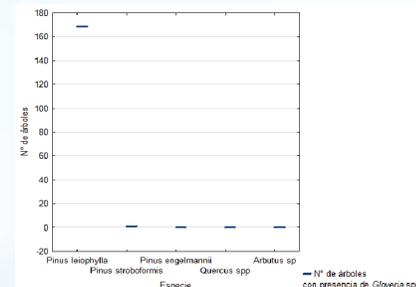


Figura 1. Presencia de *Gloveria* spp. por especie

**Porcentaje de defoliación en *Pinus leiophylla*:** De acuerdo a los resultados obtenidos en campo, la defoliación severa se dio en aquellos árboles cuya media en el número de bolsas era mayor a 2 bolsas, en total se encontraron 39 árboles donde el porcentaje de defoliación fue severa. La mayoría de los árboles presento defoliación moderada (51 a 75%) con presencia de una bolsa promedio, cuadro 3.

Cuadro 3. Daños por *Gloveria* spp según la escala de [4], Escasa (0 a 25%), Ligera (26 a 50%), Moderada (51 a 75%) y Severa (76 a 100%).

Porcentaje de defoliación	Media N° de bolsas	N° de árboles	Desviación Estándar
Escasa (0-25%)	1.25	4	0.50
Ligera (26-50%)	1.45	53	0.85
Moderada (51-75%)	1.64	73	0.65
Severa (76-100%)	2.41	39	1.19

**Porcentaje de parasitismo.** De un total de 637 larvas de *Gloveria* spp. traídas de campo y depositadas en la cría, emergieron un total de 77 ejemplares de parasitoides en diferentes etapas de desarrollo (larvas, pupas y adultos) de (Diptera: Tachinidae) obteniendo 11% de parasitismo.



Figura 2. Porcentaje de parasitismo de (Diptera: Tachinidae) sobre *Gloveria* spp

**Conclusiones y perspectivas.** Se concluye que *Gloveria* spp. es una especie de gran importancia en los bosques de los bosques de la UMAFOR 1008, Durango, al ser la plaga con más presencia en la región sobre la especie *pinus leiophylla* siendo este su principal hospedero. Se presentaron porcentajes de defoliación severa en el follaje de los árboles al haber presencia de dos o más bolsas por copa y de moderada a severa con presencia de solo una bolsa. Existe la presencia en la región de enemigos naturales (parasitoides) que mostraron un porcentaje de parasitismo de 11% de las larvas obtenidas de campo.

**Agradecimientos.** A CONACYT por otorgarme la beca de manutención, a la Dra. Berenice González-Maldonado por su apoyo en todo momento y al Politécnico Nacional de México por abrirme las puertas de su institución.

### Referencias.

- Nicholls, C. I. (2008). *Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico* (Vol. 2). Universidad de Antioquia.
- Sanchez-Martinez, G., & Wagner, M. R. (1999). Short-term effects of defoliation by sawflies (Hymenoptera: Diprionidae) on above-and below-ground growth of three ponderosa pine genotypes. *Environmental entomology*, 28(1), 38-43.
- CONAFOR. 2015. Alerta temprana para insectos defoliadores. Comisión Nacional Forestal, México.
- Álvarez Zagoya, R., & Díaz Escobedo, V. D. M. (2010). *Gloveria* sp. (Lepidoptera: Lasiolepididae), Un nuevo registro de defoliador del pino piñonero, en el Ejido Minerva, Municipio de Durango, Dgo. *Vidsupra*. 2(1): 29-34.

## NANOENCAPSULACIÓN DEL EXTRACTO DE *Hypericum perforatum* CON QUITOSANO PARA EL BIOCONTROL DE ENFERMEDADES FÚNGICAS EN EL CULTIVO DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica* L.).

Carolina Niño Martínez, Ma. de la Paz Salgado\*, Gloria Dávila Ortiz\*\*

\*Investigador titular Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Ext 57819, masalgado@ipn.mx

\*\*Investigador titular Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Ext 57870, gdavilao@yahoo.com

Palabras clave: Biocontrol, nanoemulsiones, *Opuntia ficus-indica*, *Hypericum perforatum*

**Introducción.** El nopal *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill es una planta cactácea nativa de México, compuesta por dos subproductos: cladodios y tunas, los cladodios son pencaas o tallos gruesos cuya cutícula cerosa minimiza la evapotranspiración, las tunas son frutos dulces que contienen numerosas semillas. Debido a la gran versatilidad del uso de esta planta en la industria de alimentos, cosmética y farmacéutica, el área del cultivo en México asciende a 56.000 hectáreas, de las cuales el 78% se destina a la producción de tuna, 20% para nopal (verdura) y el 2% para xoconostle. No obstante, la incidencia de plagas y enfermedades, así como la escasa adopción de tecnología genera un 65% de pérdidas, siendo las enfermedades fúngicas una de las principales causas del deterioro de calidad pre y post cosecha, con incidencia de enfermedades como mancha negra (*Pseudocercospora opuntiae*), pudrición de cladodio y fruta (*Lasiodiplodia theobromae*) mancha dorada (*Alternaria alternata*) y pudrición de raíces (*Fusarium oxysporum*), entre otros (1,2).

En este contexto, el uso de extractos vegetales con propiedades antimicrobianas para el control biológico de fitopatógenos se ha consolidado como una alternativa eficiente y sostenible, en la que algunas plantas presentan compuestos activos que inactivan o inhiben la incidencia enfermedades, los extractos vegetales más estudiados han sido de neem, ajo, aloe vera, jengibre, tomillo, romero, cebolla y hierba San Juan (*Hypericum perforatum*), ésta última reportada como potencial biofungicida en función de su composición química y la presencia de metabolitos secundarios como derivados diantrónicos (naftodiantronas, hipericina) y derivados fluoroglucínicos (hiperforina), flavonoides, ácidos fenólicos (caféico, clorogénico) y esteroides (3). Es por ello que el objetivo de esta investigación es evaluar el efecto de la nanoencapsulación del extracto de *Hypericum perforatum* con quitosano para el biocontrol de la mancha dorada (*Alternaria alternata*) del cultivo del nopal (*Opuntia Ficus Indica*).

**Planteamiento del problema.** El manejo fitosanitario de enfermedades fúngicas en el cultivo de nopal se ha basado en prácticas culturales como podas o quemas, así como la aplicación indiscriminada de fungicidas los cuales además de perjudicar la salud de los consumidores pueden ocasionar resistencia e incrementar la dependencia de pesticidas, los costos de producción y el impacto socioambiental (Dornelas Santana et al., 2020.). Al respecto, una de las enfermedades que más afecta los sistemas productivos del nopal, es la mancha dorada causada por *Alternaria alternata* la cual ocasiona áreas circulares cloróticas que en una fase posterior conduce a pudrición seca y necrosis del tejido (5). Este hongo se ha reportado en múltiples cultivos y se caracteriza por su alta patogenicidad asociada a la gran adaptabilidad a diversas condiciones ambientales lo que dificulta su manejo. En este sentido, Infante y colaboradores en 2021 aislaron e

identificaron mediante análisis filogenético las especies de *Alternaria* asociadas al nopal, encontrando tres especies altamente patogénicas responsables de manchas marrones con halos cloróticos y producción de micotoxinas potencialmente peligrosas para el consumo humano (6). Por otro lado, Montiel-Salero y colaboradores en 2021 reportaron por primera vez *Alternaria alternata* como patógeno en xoconostle (*Opuntia matudae*) en Hidalgo, México, a través de un análisis comparativo de la sintomatología de la enfermedad (7).



Así mismo, otro estudio evaluó la efectividad de la aplicación de fungicidas sintéticos para el control de la mancha marrón del cladodio asociado con *Alternaria* y otros patógenos como *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Neopestalotiopsis* y *Nigrospora*; concluyendo que el control químico con fungicidas sistémicos de amplio espectro pueden ser ineficientes para la inhibición del crecimiento micelial de *Alternaria* debido a la resistencia natural o adquirida que presenta este patógeno (4).

En consecuencia, algunos estudios han reportado la actividad antibacteriana y antifúngica de nanoemulsiones con quitosano, pectina e Hidroxipatita (HAP) a través de mecanismos de acción basados en la alteración de la permeabilidad de las membranas celulares y por ende la alteración del metabolismo y funcionalidad de los agentes patógenos (8). Adicionalmente, se ha estudiado el potencial que tiene el extracto oleoso de *Hypericum perforatum* dadas sus propiedades antisépticas, antivirales, antiinflamatorias y antitumorales, así como por su actividad antioxidante, antifúngica y citotóxica (9).

Teniendo en cuenta que el cultivo de Nopal es de vital importancia para la economía y la cultura en México y existen pocos estudios de la aplicación de nanoemulsiones de *Hypericum perforatum* en el biocontrol de plagas y enfermedades, el presente estudio busca aportar al desarrollo de alternativas sostenibles y eficientes para el control biológico a partir de extractos vegetales.

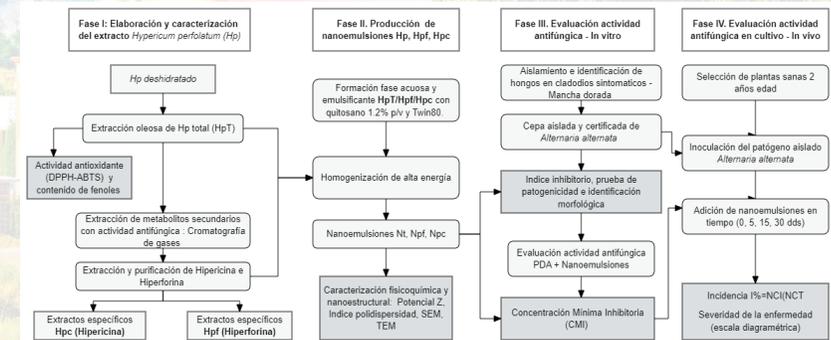
**Justificación.** En México el cultivo del nopal constituye el ingreso de aproximadamente de 15.000 familias rurales que se ven afectadas por los altos costos de producción y los bajos niveles de productividad asociada a la incidencia de enfermedades y la dependencia a pesticidas químicos, por lo tanto, la innovación y el desarrollo de nanocompuestos

a partir del uso de extractos vegetales para el control biológico de plagas y enfermedades adquiere relevancia como manejo fitosanitario sostenible y económicamente viable, dada la naturaleza biodegradable de las partículas de origen natural y su potencial antimicrobiano. La investigación busca aportar al desarrollo de nanotecnologías aplicadas al biocontrol de la mancha dorada en el cultivo del Nopal en México, a través del estudio del efecto de la nanoencapsulación del extracto de la hierba San Juan y sus metabolitos secundarios en el control in vitro e in vivo de *Alternaria alternata*.

**Objetivo general.** Evaluar el efecto de la nanoencapsulación del extracto de *Hypericum perforatum* para el biocontrol de la mancha dorada (*Alternaria alternata*) del cultivo del nopal (*Opuntia Ficus Indica*).

**Objetivos particulares.** (i) Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y estructurales de las nanoemulsiones (ii) Determinar la concentración mínima inhibitoria de las nanoemulsiones a partir del extracto de *Hypericum perforatum*; (iii) Aislar e identificar los hongos asociados a la mancha dorada del Nopal en campo; (iii) Evaluar la actividad antifúngica de las nanoemulsiones in vivo en el cultivo de Nopal.

**Estrategia metodológica.** El estudio comprende el análisis de: (a) Elaboración y caracterización del extracto de hierba San Juan; (b) Producción y estabilización de las nanoemulsiones (c) Identificación y aislamiento de hongos causantes de la enfermedad mancha dorada en nopal tunero (d) Evaluación de la actividad antifúngica de las nanoemulsiones in vitro e in vivo. En este sentido, la investigación se desarrollará en cuatro fases como se indica en el siguiente diagrama:



**Resultados esperados.** Las nanoemulsiones del extracto total y específico de *Hypericum perforatum* presentan actividad antifúngica y pueden ser usadas en el biocontrol de la enfermedad de la mancha dorada causada por *Alternaria alternata* presentando una inhibición del crecimiento micelial de al menos 50% (EC<sub>50</sub>) en el ensayo in-vitro y una disminución de la severidad por debajo del 25%.

### Referencias.

- Flores-Flores R, Velázquez-del Valle MG, León-Rodríguez R, Flores-Moctezuma HE, Hernández-Lauzardo AN. Identification of fungal species associated with cladode spot of prickly pear and their sensitivity to chitosan. *Journal of Phytopathology*. 2013 Aug;161(7-8):544-52.
- Shoukat R, Cappai M, Pia G, Pilia L. An Updated Review: *Opuntia ficus indica* (OFI) Chemistry and Its Diverse Applications. *Applied Sciences*. 2023 Jun 29;13(13):7724.
- Avcioglu M, Akar F. Gastroprotective effect of *Hypericum perforatum* extract on indomethacin induced gastric ulcer in rats. *Rev MVZ Córdoba*. 2022 May 1;27(2).
- Dornelas Santana M, Carolina Henrique de Lima Leite I, Carlos da Silva Santos I, Jorge Michereff S, do Livramento Freitas-Lopes R, Pedro Lopes U. Reduction of cladode brown spot in cactus pear in semi-arid growing areas and yield increase using fungicides. Available from: <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00462-9>
- Şimşek A, Dınler H, Uysal Morca A. Identification and pathogenicity of *Alternaria alternata* causing leaf spot disease on sweet cherry in Province of Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2022 Dec 1;129(6):1355-66.
- Infante NB, da Silva GCS, Feijó FM, da Silva SJC, Assunção IP, de Andrade Lima GS. *Alternaria* species associated with cladode brown spot in cactus prickly pear (*Nopalea cochenillifera*). *Eur J Plant Pathol*. 2021 May 1;160(1):215-26.
- Montiel-Salero D, Jiménez-Aguilar A, Ramírez-Sánchez SE, Ruiz-Juárez D, Guerrero-Andrade O, Segundo-Pedraza E, et al. First report of *Alternaria alternata* causing the golden spot in xoconostle (*Opuntia matudae*) in Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*. 2021 Dec 31;40(1).
- Salgado-Cruz M de la P, Salgado-Cruz J, García-Hernández AB, Calderón-Domínguez G, Gómez-Viquez H, Oliver-Espinosa R, et al. Chitosan as a coating for biocontrol in postharvest products: A bibliometric review. Vol. 11, Membranes. MDPI AG; 2021.
- Del Monte D, De Martino L, Marandino A, Fratianni F, Nazzaro F, De Feo V. Phenolic content, antimicrobial and antioxidant activities of *Hypericum perforatum* L. *Ind Crops Prod*. 2015 Nov 5;74:342-7.

## POTENCIAL DEL CULTIVO CELULAR *IN VITRO* PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS BIOACTIVOS DE *Agave durangensis*

Heberto Iván Salas Ayala, José Antonio Ávila Reyes\*

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional, Sigma 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, Durango 34220, Mexico.

\* Email: jaavre@yahoo.com.mx; Tel/Fax: 52 618 8142091; Tel: 52 55 57296000 ext. 82603.

Palabras clave: Cultivo celular, *in vitro*, *Agave durangensis*, compuestos fenólicos, reguladores de crecimiento.

### Introducción.

*Agave durangensis* (*A. durangensis*) es una especie endémica del estado de Durango cuyo aprovechamiento principalmente ha sido en la producción artesanal de mezcal a nivel regional. Dentro de sus múltiples metabolitos secundarios destacan los compuestos fenólicos cuya actividad bioactiva ha sido estudiada como antioxidante e hipoglucemiante (1). Los individuos silvestres de esta especie están sometidos a diversos factores ambientales los cuales provocan variación en la producción de compuestos fenólicos. El cultivo de tejidos es una técnica empleada para monitorear y controlar el desarrollo de plantas con la finalidad de estimular las rutas de biosíntesis que regulan a los compuestos fenólicos (2). Con la finalidad de encontrar las condiciones que permitan obtener el mayor rendimiento en la producción de compuestos fenólicos bioactivos de valor farmacológico se propone evaluar la producción de compuestos fenólicos generados en una suspensión celular de *A. durangensis*.

### Metodología.

#### Material vegetal.

Se germinaron semillas de *A. durangensis* para producir plántulas y obtener explantes de tallo y hoja de 5 mm cada uno procedentes de individuos con 8 semanas de edad en condiciones de invernadero.

#### Inducción a callo

Se preparó el medio de cultivo semisólido Murashige y Skoog (MS), sacarosa (30 g L<sup>-1</sup>) y agar (8.30 g L<sup>-1</sup>) como agente gelificante, en presencia de ácido 2,4-dicloroacético (2,4-D) (0-9.52 μM), 6-Bencilaminopurina (BAP) (0-4.52 μM), pH= 5.8 esterilizado a 120 °C y 1.05 kgf cm<sup>-2</sup>. Los cultivos fueron incubados a 25±2 °C y 16 h luz y 8 h. Se pusieron 10 explantes de tallo y hoja para cada tratamiento por triplicado. Se observaron las siguientes características: porcentaje de callogénesis y morfología.

**Determinación de composición fenólica.** Fenoles totales, flavonoides, taninos y antocianinas. Perfiles fenólicos por HPLC-DAD.

#### Evaluación de actividad antioxidante e hipoglucemiante.

Para determinar capacidad antioxidante 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) y Potencial Reductor Férrico (FRP).

Inhibición de enzimas α-glucosidasa y α-amilasa de los compuestos fenólicos.

#### Análisis de datos.

Análisis de varianza y pruebas de discriminación de medias.

Con los perfiles fenólicos se construirán matrices binarias de presencia/ausencia que se someterán a análisis de componentes principales.

### Resultados y discusión.

#### Calogénesis

Los explantes puestos sobre el medio de cultivo sin reguladores de crecimiento, es decir, en ausencia de 2,4-D y BAP que fueron tomados como controles, los tallos generaron raíz para nutrirse del medio de cultivo, desarrollándose también hojas en el explante (Figura 1). Por otra parte, los explantes que generaron callo fueron en aquellos donde estaba presente 2,4-D en el medio de cultivo independientemente de la concentración de BAP (Tabla 1), lo cual generó desdiferenciación celular principalmente en la parte donde fue realizado la disección y continuo hacia el centro del explante.

Tabla 1. Inducción a callo de explantes de hoja y tallo de *A. durangensis* a diferentes concentraciones de BAP y 2,4-D

Reguladores de crecimiento (μM)	Inducción a callo (%)		Tipo de callo	
	Explante		Hoja	Tallo
2,4-D+BAP	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo
4.52+0	0	26.67	NA	Compacto amarillo
4.52+0.89	0	33.33	NA	Compacto amarillo
4.52+2.22	0	33.33	NA	Compacto amarillo
4.52+4.44	66.66	73.33	Compacto amarillo	Compacto verde
4.52+8.88	53.33	73.33	Compacto amarillo	Compacto amarillo
9.05+0	66.67	80	Compacto verde	Compacto blanco
9.05+0.89	86.67	100	Friable Amarillo	Friable Amarillo
9.05+2.22	93.33	100	Friable blanco	Friable blanco
9.05+4.44	93.33	93.33	Compacto blanco	Compacto blanco
9.05+8.88	86.66	93.33	Compacto blanco	Compacto blanco

NA: No aplica



Figura 1. Explante de tallo con raíz desarrollada

Los tratamientos con 4.52 μM generaron callo principalmente en explantes de tallo únicamente en la sección donde fue cortado el tejido para explante (Figura 2 a). La presencia de BAP en los tratamientos hizo que el tejido tanto de hoja como de tallo tuviera mayor desdiferenciación el color que predominaba en la biomasa de células que se generaron fue el amarillo con algunas pequeñas áreas verdes y café (Figura 2 b).



Figura 2. (a) Callo de tejido de tallo con 4.52 μM 2,4-D+ 0 μM BAP, (b) Callo de tejido de tallo con 4.52 μM 2,4-D+ 8.88 μM BAP

Se observó que los tratamientos donde la concentración de la auxina era de 9.05 μM el porcentaje de inducción a callo aumentaba. La interacción de la 2,4-D y en presencia de BAP en concentraciones de 0.89 y 2.22 μM hacían que el tejido de los explantes tanto de hoja como de tallo se desdiferenciara generando callo con apariencia friable, textura suave, color amarillo claro y blanco. Cuando la concentración de BAP aumentó el tejido generó un callo compacto cuya textura era rígida (Figura 3).



Figura 3. (a) Callo de tejido de tallo con 9.05 μM 2,4-D+ 0.89 μM BAP, (b) Callo de tejido de tallo con 9.05 μM 2,4-D+ 2.22 μM BAP,

Los explantes donde únicamente tenían presente BAP no presentaron desdiferenciación celular ni desarrollo de tejidos. Se ha encontrado que la dosis de auxina específicamente 2,4-D para la inducción a células desdiferenciadas de otras especies del género *Agave* fue de 9.05 μM en explantes de tallo y hoja (3, 4), sin embargo, tuvo que ser combinada con una citocinina para que se pueda disgregar para la suspensión celular (5).

**Conclusiones y perspectivas.** La totipotencia de las células vegetales le permite a los explantes colocados en el medio de cultivo generar raíz para mantenerse vivos todo esto gracias a los reguladores de crecimiento endógenos que tienen los tejidos de la plántula. Por la citocinina contenida en el tejido vegetal de los explantes colocados en presencia de la auxina alcanzaron ese grado de desdiferenciación celular. La presencia de auxinas y citocininas exógenas permitió la generación de callo friable capaz de disgregar las células en medio de cultivo líquido y someterlas a elicitación de tal forma que se generen los compuestos fenólicos buscados.

**Agradecimientos.** SIP 20201367. "Caracterización fitoquímica y actividad biológica de extractos de hojas de especies de agave utilizadas en la industria del mezcal en el Centro Occidente de México".

### Referencias.

- Barriada-Bernal, Luis Gerardo, Norma Almaraz-Abarca, Eil Amanda Delgado-Alvarado, Tzayhrí Gallardo-Velázquez, José Antonio Ávila-Reyes, Martha Isabel Torres-Morán, María del Socorro González-Elizondo, y Yolanda Herrera-Arrieta. 2014. «Flavonoid Composition and Antioxidant Capacity of the Edible Flowers of *Agave Durangensis* (Agavaceae)». *CyTA - Journal of Food* 12(2):105-14. doi: 10.1080/19476337.2013.801037.
- Puente-Garza, César A., Cristina Meza-Miranda, Desiree Ochoa-Martínez, y Silverio García-Lara. 2017. «Effect of *in vitro* Drought Stress on Phenolic Acids, Flavonols, Saponins, and Antioxidant Activity in *Agave Salmiana*». *Plant Physiology and Biochemistry* 115:400-407. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.04.012.
- Yanmei, Z., Xin, L., Chen, Z., Junfeng, L., Junying, L., Wenzhao, Z., y Zhou, W.-Z. (2013). Shoot organogenesis and plant regeneration in *Agave hybrid*, No. 11648. *Scientia Horticulturae*, 161(161), 30-34. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.06.047>
- Reyes-Silva, A. I., Nuñez-Palenius, H. G., Ocampo, G., y Pérez-Molphe-Balch, E. (2022). REGENERACIÓN *in vitro* DE *Agave woomahi* GENTRY (ASPARAGACEAE). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 45(4), 493. <https://doi.org/10.35196/rtm.2022.4.493>
- Adil, Muhammad, Xiuxia Ren, Dong Li Kang, Luc The Thi, y Byoung Ryong Jeong. 2018. «Effect of Explant Type and Plant Growth Regulators on Callus Induction, Growth and Secondary Metabolites Production in *Cnidium Officinale* Makino». *Molecular Biology Reports* 45(6):1919-27. doi: 10.1007/s11033-018-4340-3.

## ANÁLISIS DEL MODELO DE INTERACCIÓN TRIPARTITA MAÍZ-B25-FV: ESTUDIO DE EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE QUITINASAS COMO MECANISMO DE DEFENSA

Jesús Eduardo Cazares Álvarez, Ignacio Eduardo Maldonado Mendoza\*

CIIDIR-IPN UNIDAD SINALOA, Guasave, Sinaloa, México, CP. 81100, Tel. Fax. (52) 687 87 9626, imaldona@ipn.mx

Palabras clave: fungalisina, subtilisina, quitinasa, maíz, proteína

**Introducción.** Las quitinasas pueden encontrarse en bacterias, virus, insectos, hongos y plantas. En el maíz, las quitinasas participan en la señalización de respuesta ante factores abióticos y bióticos, como la respuesta ante la infección por *Fusarium verticillioides* (Fv), causante de la pudrición de mazorca, tallo y raíz. Fv suprime la respuesta de quitinasas mediante la producción de proteínas modificadoras de quitinasas (Fv-cmp) o fungalisina (1) y posiblemente por la acción conjunta de una subtilisina (Fvsep). Por otra parte, *Bacillus cereus* B25 es antagonista a Fv a través de la producción de sideróforos, antibióticos y quitinasas (2). Sin embargo, se postula que las quitinasas de B25 no son modificadas por las Fv-cmps por lo que podrían hidrolizar la pared celular del hongo, producir elicitores e inducir el mecanismo de defensa del maíz. Por lo que el objetivo de este proyecto es demostrar que las quitinasas de B25 participan en la inducción y actividad de quitinasas de maíz para contrarrestar la infección por Fv.

**Metodología.** Se realizó un análisis de Genome-Wide utilizando el genoma del maíz para identificar genes de quitinasas. Se seleccionaron 15 genes de los genes identificados para analizarse por qRT-PCR. Para comprobar el efecto de las Fv-cmps se probaron dos tecnologías de clonación: *E. coli* Gateway System y PichiaPink™ Expression System. Los ensayos tripartita (ensayo de papel enrollado) se harán utilizando semillas de maíz blanco Garañón, formulado de esporas de B25 y suspensión de conidios de Fv. Se harán análisis de qRT-PCR, actividad quinolitínica y localización de quitinasas en tejido de raíz utilizando anticuerpos policlonales.

**Resultados y discusión.** Se identificaron 39 genes de quitinasas de acuerdo con la base de datos de MaizeGDB usando la versión NAM-5.0 del genoma de maíz. Se logró caracterizar los genes (longitud, cantidad de exones, peso molecular de la proteína, punto isoeléctrico, dominios y motivos conservados), además de identificar elementos regulatorios en cis (Figura 1) y factores de transcripción. Por otra parte, se logró clonar ambos genes (Fvcmp y Fvsep) de Fv en los vectores de expresión pPink-HC (PichiaPink™) y pDEST17 (*E. coli* Gateway) (Figura 2). Hasta el momento no ha sido posible obtener la proteína purificada en el sistema Gateway de *E. coli*, sin embargo, se obtuvo actividad de modificación de quitinasas en el sobrenadante de *Pichia pastoris*, por lo que se eligió esta tecnología de clonación y expresión (Figura 3).

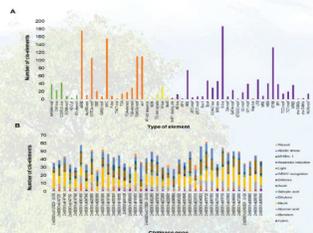


Figura 1. Predicción de los elementos regulatorios en cis en la región promotora de los genes de quitinasas de maíz (A) y diferencia del número de elementos cis en la región promotora (B).

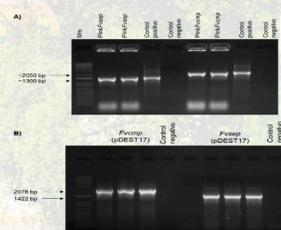


Figura 2. Amplificación de los genes fvcmp y fvsep dentro del vector de expresión pPink-HC (A) y pDEST17 (B).

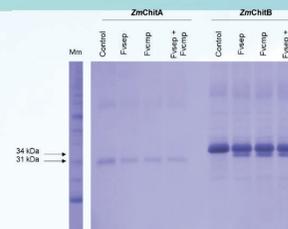


Figura 3. Actividad de modificación de quitinasas utilizando sobrenadante de *Pichia pastoris* transformada con el gen de subtilisina y fungalisina.

**Conclusiones y perspectivas.** Se logró identificar los genes de quitinasas del maíz y su caracterización, así como la obtención de elementos regulatorios en cis relacionados a defensa, desarrollo vegetal, respuesta ante estrés abiótico y respuesta a hormonas. La clonación y transformación de los genes de Fv en *Pichia pastoris* permitirán elucidar el funcionamiento de ambas proteasas en la modificación de las quitinasas de maíz. El estudio de la interacción tripartita maíz-Fv-B25 a nivel molecular permitirá evaluar la capacidad que tiene la bacteria B25 de contrarrestar la infección por Fv y comprobar si, durante esta interacción, las quitinasas de B25 funcionan como un mecanismo alternativo para inducir la producción de quitinasas de maíz.

**Agradecimientos.** Este trabajo es apoyado por una beca de CONACYT-FOINS (Fronteras de la Ciencia) FC-2016-01-2510.

### Referencias.

- Naumann, T.A.; Wicklow, D.T., & Price, N.P.J. (2011). Identification of chitinase modifying protein from *Fusarium verticillioides*: truncation of a host resistance protein by a fungalysin metalloprotease. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(4): 35358-35368.
- Figuerola-López, A.M. (2016). Caracterización de los mecanismos de antagonismo que emplea *Bacillus cereus* seleccionado para el control de *Fusarium verticillioides* (Tesis de doctorado). Instituto Politécnico Nacional. CIIDIR-Sinaloa, Guasave, Sinaloa, México.

## DINÁMICA ESTRUCTURAL Y ACUMULATIVA DE CARBOHIDRATOS DE *Agave durangensis* Y EVALUACIÓN DE SUS PROPIEDADES FUNCIONALES

Shaila Nayeli Pérez Salinas, Dr. Rene Torres Ricario, Dra. Yolanda Herrera Arrieta\*

CIIDIR IPN Unidad Durango, calle Sigma Núm. 119 Fracc. 20 de noviembre II C.P. 34220 Durango, Dgo. Teléfono (618) 814 4540 y 814 2091, [shailanaveliperezsalinas@gmail.com](mailto:shailanaveliperezsalinas@gmail.com), teléfono 6182978353.

Palabras clave: *Agave*, fructanos, mezcal, prebióticos y grado de polimerización.

**Introducción.** La familia Agavaceae es endémica de América, se distribuye desde el sur de Canadá hasta el norte de Sudamérica. A esta familia pertenece el género *Agave*, cuyo centro de origen se considera que es México. El número de especies que pertenecen al género *Agave* es actualmente controversial. Algunos autores reconocen 166, otros 200, y algunos más mencionan hasta 273; sin embargo, si hay unanimidad en considerar que el 75% de las especies del género se encuentra en México y 55% crece exclusivamente en él (1).

Con 24 especies, el estado de Durango ocupa, junto con San Luis Potosí, el cuarto lugar en diversidad de especies de *Agave* (2). Las especies de este género son mundialmente conocidas debido a su empleo para la producción de bebidas alcohólicas (3).

Los compuestos de los agaves que sirven para elaborar mezcal son conocidos como inulinas, o fructanos. El término genérico de fructanos se emplea para referirse a oligosacáridos y polisacáridos (lineales y/o ramificados).

**Antecedentes.** El contenido de fructanos puede variar dependiendo de los estímulos y condiciones en que la planta crece (4). En estudios con plantas de *Agave tequilana* y *A. inaequidens* (5) se demostró un cambio en el contenido y grado de polimerización de fructanos durante la respuesta al estrés por baja temperatura, estrés osmótico/sequia, y en respuesta al ácido salicílico.

**Planteamiento del problema.** Las agavinas (fructanos de la planta de agave) se utilizan por sus propiedades tecnológicas y prebióticas en el desarrollo de alimentos funcionales. Por lo tanto, en el presente trabajo se pretende evaluar los cambios estructurales, acumulación de fructanos y sus propiedades funcionales en *Agave durangensis* en diferentes etapas de desarrollo de la planta.

**Justificación.** Los fructanos son compuestos químicos importantes en la industria de producción de bebidas alcohólicas, además de presentar propiedades medicinales sobresalientes. Estas propiedades dependen del tipo, cantidad y edad de la planta al ser colectada. El *Agave durangensis* es una importante fuente de estos compuestos. Sin embargo, no existe un estudio acerca del cambio en su estructura y acumulación a lo largo de su ciclo de vida. Además, un cambio en su estructura, estaría relacionado con un efecto en su potencial funcional (medicinal).

**Objetivo general.** Determinar los cambios estructurales y de acumulación de carbohidratos durante el desarrollo de las plantas de la especie y evaluar sus propiedades funcionales.

**Objetivos particulares.** 1. Evaluar las diferencias en la acumulación, con métodos espectrométricos, de carbohidratos del corazón de plantas de *Agave durangensis*, entre poblaciones durante 24 meses de crecimiento.

2. Evaluar las diferencias estructurales, por medio de métodos cromatográficos y espectrométricos, de carbohidratos del corazón de plantas de *Agave durangensis*, entre poblaciones durante 24 meses de crecimiento.

3. Determinar las bioactividades como antioxidantes, antihipoglucemiantes, y antiglicantes de los carbohidratos del corazón de plantas de *Agave durangensis*.

**Estrategia metodológica.** Colecta de material vegetal y germinación de semillas de *Agave durangensis*. Posteriormente se realizará la caracterización estructural y acumulativa de carbohidratos de *Agave durangensis* de diferentes poblaciones, así como también la determinación del contenido de fructanos por medio enzimáticos y del perfil de carbohidratos (fructanos) de individuos de *Agave durangensis* de diferente edad y población por medio de cromatografía en placa fina.

Para la caracterización química de fructanos se llevará a cabo mediante un análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y mediante HPAEC-PAD. Por último, se realizará evaluación de la funcionalidad de fructanos de *Agave durangensis* de diferentes poblaciones a diferentes edades y evaluación de actividad anti-diabética, como se muestra en la figura 1.



Figura 1. Pasos a seguir para la evaluación de carbohidratos en *Agave Durangensis*.

**Resultados esperados.** Se pretende obtener un cambio estructural y de concentración de los carbohidratos de diferentes poblaciones de agave mezcalero y su comparación entre las mismas para hacer un estudio de proyección de maduración de estos carbohidratos, su maduración y su funcionalidad a lo largo del tiempo.

### Referencias.

- García-Herrera EJ, SJ Méndez-Gallegos, Talavera-Magaña. 2008. El género *Agave* spp. en México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *Revista Salud Pública 5 (edición especial)*: 109-129.
- García-Mendoza AJ. 2007. Los agaves de México. *Ciencias* 87:14-23.
- Naivy Y, Nava-Cruz, Miguel A, Medina-Morales, José L, Martínez, R, Rodríguez & Cristóbal N, Aguilar. 2014. *Agave biotechnology: an overview. Critical Reviews in Biotechnology* Pages 546-559.
- Wendy Guadalupe García-Villalba, Raúl Rodríguez-Herrera, Luz Araceli Ochoa-Martínez, Olga Miriam Rutiga-Quinones, José Alberto Gallegos-Infante & Silvia Marina González-Herrera. 2022. *Journal of food science and technology*. Pages 1265-1273.
- Edgar Martín Suárez-González, Mercedes G. López, John P. Délano-Frier, Juan Florencio Gómez-Leyva. 2014. *Journal of plant physiology*. Pages 359-372.

## APLICACIÓN DE TECNOLOGÍA ULTRASONÓICA PARA EL BLANQUEAMIENTO DE ACEITES VEGETALES COMESTIBLES

Alelhi del Carmen De Jesús Hernández, Héctor Ruiz Espinosa, Genaro Gustavo Amador Espejo\*, y Raúl Jacobo Delgado Macuil\*. Instituto Politécnico Nacional. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Texcucocmac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 907000, México. Tels.: 01 248 48 707 65 y 66. rdmacuil@yahoo.com.mx y genaroamador2014@gmail.com.

Palabras clave: Blanqueamiento ultrasónico, aceites vegetales, semilla de calabaza (*Cucurbita pepo* L.).

**Introducción.** A pesar de que la República Mexicana cuenta con una extensa gama de frutos y semillas oleaginosas de las cuales se pueden extraer aceites vegetales, actualmente se están realizando investigaciones sobre la extracción y el procesamiento del aceite de semilla de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) y, de esta manera aprovechar su alto contenido en ácido linoleico (56%) y oleico (36%), en productos que se utilicen de manera diaria, y no solo en dulces tradicionales (1).

Sin embargo, para que estas características se preserven intactas en el aceite vegetal, es necesario que éste no sea procesado con altas temperaturas, como ocurre en el actual proceso de blanqueamiento (2). Esto se debe a que, existen investigaciones que señalan que las configuraciones *cis* presentes en los ácidos grasos antes mencionados, pueden verse afectadas por efecto de la temperatura en conjunto con tiempos largos de proceso (3). Asimismo, este método de blanqueamiento utiliza altos porcentajes de arcilla blanqueadora, lo cual representa un riesgo latente de contaminación de suelo y agua al no existir alguna metodología que permita su reutilización y sea forzoso su desecho (4). Es por ello, que el objetivo de esta investigación fue desarrollar un tratamiento de blanqueamiento para los aceites de canola y semilla de calabaza utilizando ultrasonido de alta potencia como tecnología principal, permitiendo la reducción del tiempo de proceso, la temperatura y el porcentaje de arcilla en esta práctica.

**Metodología.** Se realizaron 9 tratamientos de blanqueamiento ultrasónico (3 repeticiones) combinando 3 tiempos de proceso (60, 75 y 90 min) y 3 porcentajes de arcilla blanqueadora (1, 2 y 3% tierra diatomea o bentonita), utilizando como parámetros de sonicación 600 W y 40 kHz a una temperatura controlada de 60 °C, utilizando un baño ultrasónico (JEERIMFN T-100ST, China) como equipo de operación. Del mismo modo, se aplicó un tratamiento convencional de blanqueamiento (3% arcilla, 180 min y 140 °C) como método control. Posteriormente, todos los aceites blanqueados fueron sometidos a un análisis de pigmentos (clorofila a, clorofila b y carotenoides), un análisis de color (L\*, a\* y b\*) (chroma y hue), un análisis de índice de yodo y un análisis espectroscópico (FTIR-ATR) para evaluar y conocer el efecto de cada tratamiento sobre los diferentes aceites.

**Resultados y discusión.** Uno de los principales análisis realizados a un aceite vegetal blanqueado, es la determinación de pigmentos, principalmente clorofilas y carotenoides. Debido a que con esta evaluación se puede tener una idea más clara, de que tan efectivo es el blanqueamiento aplicado, como puede afectar a la muestra y si los parámetros establecidos son suficientes para disminuir este tipo de

partículas. Fue así, que, para realizar el blanqueamiento del aceite de semilla de calabaza, se utilizaron dos arcillas minerales: tierra diatomea y bentonita. Y, para el análisis de la primera de ellas, se consideraron resultados previos, en los que se observó mediante gráficas de contorno, que los métodos ultrasónicos presentaban una mayor reducción de clorofilas y carotenoides al utilizar tiempos de proceso de 75 min y porcentajes de arcilla de 1 a 2% (Figuras 1).

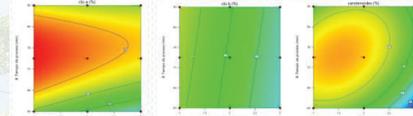


Figura 1. Gráfica de contorno del porcentaje de la reducción de clorofila a, clorofila b y carotenoides (izquierda a derecha) del aceite de calabaza tratado mediante tratamientos de blanqueamiento ultrasónico a 60 °C.

No obstante, fue necesario realizar una optimización de dichos datos, para que, se tuviese un solo tratamiento de blanqueamiento que permitiese la mayor reducción de los tres pigmentos analizados, utilizando una sola condición. Fue así, que, al utilizar el programa Desing expert se pudo delimitar las siguientes condiciones de blanqueamiento: 60 min, 1 % (p/p) arcilla y 60 °C. Reduciendo aproximadamente 95% de compuestos clorofilicos y 93% de carotenoides. Una vez que se tuvieron las condiciones teóricas de blanqueamiento, se procedió su realización experimental, comparando dicho tratamiento con aquellos que redujeron la mayor cantidad de pigmentos de manera individual: a) 75 min 1%, b) 75 min 3% y c) 90 min 1%.

Fue así, que, de manera experimental, se obtuvieron los siguientes resultados. El tratamiento propuesto por el programa Desing expert, presentó una reducción aproximada del 97%, con cuantificaciones de 0.36 µg clo a/100 g de aceite, 1.37 µg clo b/100 g de aceite y 166.42 µg β-carotenos/100 g de aceite, convirtiéndose así, como el segundo tratamiento más efectivo. Puesto que, el tratamiento que logró una reducción de aproximadamente el 99% de los compuestos fue aquel que operó durante 75 min con 3% de arcilla, presentando cuantificaciones de 0.13 µg clo a/100 g de aceite, 0.29 µg clo b/100 g de aceite y 182.36 µg β-carotenos/100 g de aceite. Dichos resultados permitieron elucidar que el tratamiento propuesto por la optimización redujo un porcentaje mayor al predicho por el programa, sin embargo, éste presentó variaciones ocasionado por no fuese el mejor tratamiento.

Por otro lado, el aceite también fue sometido a un blanqueamiento ultrasónico, utilizando una segunda arcilla mineral: bentonita. Y, para su estudio, se aplicaron las nuevas condiciones de blanqueamiento: tres tiempos de proceso (60, 75 y 90 min) en combinación con tres porcentajes de arcilla (1, 2 y 3%), para posteriormente compararlos con el método convencional y definir así, la eficiencia de cada uno. Fue así, que los resultados obtenidos mostraron nuevamente que los tratamientos ultrasónicos redujeron un mayor porcentaje de pigmentos en comparación con el método convencional, puesto que, éste último alcanzó porcentajes de reducción de aproximadamente 95% para compuestos clorofilicos, y un 97% para carotenoides. Mientras que los tratamientos ultrasónicos alcanzaron hasta un 98% de reducción al analizar los tres compuestos. A pesar de esto, al utilizar bentonita, los tratamientos con mayor reducción fueron aquellos que utilizaron tiempos de procesamiento más largos (90 min) en combinación con los tres porcentajes de arcilla utilizados, y, en el caso de los compuestos clorofilicos, no se observó diferencia estadística entre ellos (p>0.05), mientras que en la cuantificación de carotenoides, sí existió una diferencia estadística (p<0.05) entre los tratamientos, siendo el tratamiento con el porcentaje de arcilla más alto, el que presentó una mayor reducción.

Dicha reducción de pigmentos, tanto en los tratamientos que utilizaron tierra diatomea, como en aquellos que utilizaron bentonita, se observó en la determinación de color de las muestras. Puesto que, hubo un cambio notorio en la luminosidad y en las tonalidades de las mismas. Dichos cambios se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Determinación de luminosidad y coordenadas cromáticas de las diferentes muestras de aceite blanqueado ultrasónicamente utilizando diferentes arcillas minerales (tierra diatomea y bentonita).

Muestra	L*	a*	b*	
Sin tratamiento	Crudo	1.47	-4.44	-2.25
	Desgomado	58.44	-2.76	-28.23
	90 min 1%	59.62	-2.18	48.95
Desing expert/tierra diatomea	75 min 1%	58.85	-1.45	48.78
	60 min 1%	59.28	-2.17	49.69
	73 min 3%	58.36	-1.41	48.78
Bentonita	Convencional	83.49	-1.37	25.19
	60 min 1%	77.36	-6.41	41.23
	60 min 2%	74.19	-4.55	45.93
	60 min 3%	87.05	-2.70	25.24
	75 min 1%	86.59	-8.80	36.81
	75 min 2%	87.51	-5.15	34.36
	75 min 3%	86.71	-4.92	36.54
	90 min 1%	86.79	-6.95	36.25
	90 min 2%	87.90	-2.86	33.17
90 min 3%	87.45	-1.63	30.56	

Los resultados de la Tabla 1 muestran que las muestras tratadas ultrasónicamente utilizando bentonita como arcilla mineral mostraron una luminosidad más alta, en comparación con el método convencional, he incluso con aquellas tratadas ultrasónicamente con

tierra diatomea, al presentar valores de más de 80 unidades (efecto que se observó en mayor medida en aquellas muestras tratadas durante 90 min). Asimismo, con estos mismos tratamientos, las tonalidades de las muestras se acercaban más a un amarillo claro (+b) en comparación con las muestras tratadas con tierra diatomea las cuales presentaban tonalidades más opacas (+b hacia -a). Este fenómeno se hizo aún más evidente al analizar el valor de chroma y hue, puesto que las muestras sonicadas tratadas con bentonita, se encontraron en un espacio de color cercano a los 90°, representando un color amarillo intenso, propio de los aceites blanqueados convencionalmente. Posteriormente, se realizó un estudio espectroscópico ATR-FTIR, mismo que ayudo a la identificación de las configuraciones *cis*, así como para realizar el cálculo del índice de yodo de las muestras. Este estudio reveló que ningún tratamiento de blanqueamiento (considerando incluso, el método convencional) modifica los dobles enlaces presentes en el aceite, observando cuantificaciones de entre 80 y 90 I<sub>2</sub>/100 g de aceite. Y, a pesar de no existir una normativa mexicana exclusiva de este aceite, el valor de índice de yodo encontrado, es similar a aceites que ya existen en el mercado como lo es el aceite de canola, oliva y maíz, los cuales rondan entre los 80 y 120 I<sub>2</sub>/100 g de aceite. Esta información se corroboró con el análisis de los espectros infrarrojos, en los que se observaron los mismos picos representativos, en todas las etapas de refinación sin presentar alguna alteración o corrimiento de las mismas.

**Conclusiones y perspectivas.** Los resultados de este estudio, permiten elucidar que la implementación del ultrasonido como metodología para la remoción de pigmentos en el aceite vegetal, es más efectiva que el método convencional, he incluso lo hace utilizando menos recursos, y, no es exclusiva a un solo tipo de arcilla mineral. Asimismo, esta tecnología permitió conservar configuraciones específicas del producto (configuraciones *cis*) a lo largo de todo su procesamiento, demostrando así, que el ultrasonido no es un método invasivo que pudiese restarle características nutricionales al producto analizado.

**Agradecimientos.** A CONACYT y al IPN por el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

### Referencias.

- [1] Gayas, B., Kaur, G. (2017). Novel oil extraction methods in food industry: A review. *Journal of Oilseed Brassica*. 1: 1-11.
- [2] Hernández Santos, B., Martínez, C.E., Gordillo, A.J., Castro, J., Gómez, C.A., Herman, E. & Rodríguez, J. (2014). Potencial nutricional de la semilla de calabaza (*Cucurbita pepo*). *Los alimentos en México y su relación con la salud*. 1: 191-209.
- [3] Szabo, Z., Marosvölgyi, T., Szabo, E., Koczka, V., Verzar, Z., Figler, M., & Decsi, T. (2021). Effects of Repeated Heating on Fatty Acid Composition of Plant-Based Cooking Oils. *Foods*. 11:1-16.
- [4] Jcyer, N., Durak, M. Z. (2018). Ultrasound-assisted bleaching of canola oil: Improve the bleaching process by central composite design. *Food Science and Technology, Elsevier*. 97: 640-647.

## EVALUACIÓN DE RESERVORIOS AMBIENTALES DE CEPAS *Escherichia coli* PRODUCTORA DE $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN TAMAULIPAS

Mandujano-Hernández J. A.<sup>1</sup>, Cortés-Espinosa D.<sup>2</sup>, Martínez-Vázquez A. V.<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Centro de Biotecnología Genómica, Laboratorio de Biotecnología Experimental, Reynosa, Tamaulipas, México.

Correo: avmartinez07@gmail.com, Tel: 899 927 0072.

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA), Instituto Politécnico Nacional, Tlaxcala, México

Palabras clave: *Escherichia coli*, reservorio ambiental, resistencia a los antibióticos, BLEE.

**Introducción.** Los antibióticos proveen un gran beneficio en salud humana y animal. Sin embargo, su uso excesivo en las últimas décadas se ha convertido en una preocupación a nivel mundial. Uno de los efectos del inadecuado de antibióticos, es la presión selectiva que ejerce sobre los microorganismos, favoreciendo el desarrollo de bacterias resistentes a antimicrobianos (RAM) (1). Lo cual complica el tratamiento efectivo de estas infecciones, alargando el tiempo de la enfermedad, agravando los síntomas y elevando los costos médicos. Se estima que anualmente 700 000 muertes se atribuyen a bacterias resistentes a antibióticos, y que esta cifra alcanzará hasta 10 millones para el año 2050 (2).

En salud pública ha tomado particular relevancia las cepas denominadas:  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), por su capacidad para hidrolizar las penicilinas, oximino-cefalosporinas y monobactámicos, pero no a las cefamicinas y los carbapenémicos (3). Así como su resistencia simultánea a otros grupos de antibióticos como tetraciclinas, aminoglicósidos y sulfonamidas.

*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* son los principales representantes de cepas productoras de BLEE. En varios países se han realizado estudios que muestran una amplia distribución de cepas BLEE en ambientes hospitalarios, agua, suelo, animales y alimentos. Sin embargo, en México se ha generado muy escasa información de los reservorios de cepas BLEE, por lo que resulta difícil evaluar su impacto en salud pública.

Por tal motivo, el objetivo del presente estudio es investigar la prevalencia de *E. coli* productora de BLEE aislada de animales productores de alimentos en Tamaulipas, México y evaluar sus perfiles de resistencia a los antibióticos

**Metodología.** El muestreo se realizó entre enero y septiembre de 2021 en el centro del estado de Tamaulipas, México. Se recolectaron  $n=200$  muestras fecales frescas de bovinos ( $n=50$ ), aves ( $n=50$ ), cerdos ( $n=50$ ) y ovinos ( $n=50$ ). Se incubaron en caldo lactosado (BD Difco™) a 37°C durante 24 h. Luego, se sembraron por estria cruzada en placas de agar azul de eosina-metileno (EMB) (BD Becton Dickinson & Co., Estado de México, México) y se incubaron a 37°C durante 18-24 h. Después de la incubación, se seleccionaron al azar tres colonias con morfología típica de *E. coli*. Cada una se sembró individualmente en placas de agar soya tripticaseína (TSA) (BD Becton Dickinson & Co) y se incubó durante 24 h a 37°C para obtener un cultivo puro. Para la identificación de *E. coli* se utilizaron pruebas bioquímicas estándar y la detección del gen *mdh* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

A todas las cepas confirmadas como *E. coli* se les realizó la prueba de sinergia de doble disco para confirmar la producción de BLEE. Se realizaron pruebas de susceptibilidad a 17 antibióticos de 4 clases mediante el método de Kirby-Bauer de acuerdo con los protocolos del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (6). Se detectaron por PCR 14 genes de resistencia, tres asociados a la resistencia a  $\beta$ -lactamasas (*bla<sub>CTX-M</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>* y *bla<sub>SHV</sub>*), y once con resistencia a antibióticos no  $\beta$ -lactámicos.

Se realizó la clasificación en filogrupos de las cepas BLEE por el método de Clermont (7). Así también, como la detección por PCR de factores de virulencia: *E. coli* shigatoxigénica (*stx1* y *stx2*) y la toxina alfa hemolisina (*hlyA*).

**Resultados y discusión.** Se analizaron un total de 200 muestras, identificando 600 cepas *Escherichia coli*. Las cepas *E. coli* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (EC-BLEE) se identificaron en una prevalencia del 5% (95% CI: 2.0–7.3%). La mayor prevalencia de EC-BLEE se observó en porcinos y aves (7.3%), mientras la menor estuvo en bovinos (2%) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Prevalencia de *E. coli* BLEE entre los diferentes reservorios ambientales.

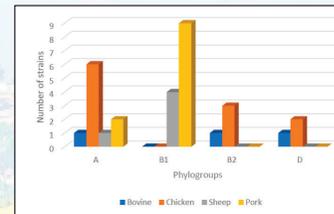
Tipo de muestra	No. de muestras	No. de cepas <i>E. coli</i>	Resistentes o intermedias a CTX	Muestras positivas a <i>E. coli</i> BLEE	No. de cepas EC-BLEE
Bovinos	50	150	36.6% (53/150)	6.0% (3/50)	2.0% (3/150)
Gallinas	50	150	35.3% (53/150)	16.0% (8/50)	7.3% (11/150)
Cerdos	50	150	37.3% (56/150)	10.0% (5/50)	7.3% (11/150)
Ovejas	50	150	44.6% (67/150)	14.0% (7/50)	3.3% (5/150)
Total	200	600	38.5% (231/600)	11.5% (23/200)	5.0% (30/600)

Los actuales resultados del porcentaje de EC-BLEE (5%) son similares al 3% reportado por Benavides *et al.*, (2021) en animales de Chile (bovinos, cerdos, pollos, ovinos y cabras) (4). Si bien este porcentaje podría parecer bajo, es fundamental recordar que estas cepas pueden transmitir su resistencia a los antibióticos a otras bacterias y pueden representar un riesgo para la salud pública si se manipulan de forma inadecuada los alimentos producidos por el ganado que las contiene.

El 93.3% (28/30) de las cepas EC-BLEE fueron multiresistentes (resistente a  $\geq 3$  grupos de antimicrobianos). Mostrando además un alto porcentaje de co-resistencia, con un 93.3% (28/30) a gentamicina, 86.6% (26/30) a tetraciclina y 83.3% (25/30) a estreptomina. Por el contrario, la mayoría de las cepas fueron sensibles a netilmicina (83.3%; 25/30). En cuanto a los genes asociados a resistencia a  $\beta$ -lactámicos, observamos que el gen *bla<sub>CTX-M</sub>* estuvo presente en 23.3% (7/30) de las cepas EC-BLEE. Mientras que en los genes no  $\beta$ -lactámicos, los más frecuentes fueron *tetA* (resistencia a la tetraciclina) en un 73.3% (22/30); seguido del gen *aadA1* (resistencia a los aminoglicósidos) con el 60.0% (18/30%). Por el contrario, el gen *qrmA* no se logró identificar en ninguna de las 30 EC-BLEE analizadas.

Al realizar la clasificación de las cepas EC-BLEE en filogrupos, un 33.3% (10/30) pertenecieron al grupo "A", 16.6% (5/30) al grupo "B1", 40% (12/30) al grupo "B2" y 10% (3/30) al grupo "D" (Cuadro 2).

Cuadro 2. Distribución de filogrupos de cepas *E. coli* BLEE.



Considerando esta clasificación, el 50% (15/30) de las cepas EC-BLEE analizadas se consideran comensales (grupo A y B1), pero pueden ser un importante vehículo de dispersión de la resistencia bacteriana a otras cepas, incluso de diferentes especies de bacterias. Y el otro 50% (15/30) de cepas EC-BLEE pertenecen a grupos patógenos (B2 y D), donde el 80% (12/15) son del grupo B2 asociado a infecciones en humanos. Por lo que representan un riesgo para la salud pública.

Al analizar los factores de virulencia, *stx1* y *stx2* no fueron identificados en ninguna de las cepas, mientras que el gen *hlyA* estuvo presente en el 43.3% (13/30) de las cepas de EC-BLEE.

Entre los resultados que resalta de este estudio, es que se detectaron 5 cepas EC-BLEE aisladas de cerdo, que fueron multiresistentes, presentaron el gen *hlyA* y además pertenecieron al filogrupos B2. Lo que involucra un alto riesgo para salud pública.

El muestreo del actual se realizó únicamente en la zona centro de Tamaulipas, por lo que podría ser una limitante al no representar al estado completo. Sin embargo, hasta donde sabemos, este es el primer estudio sobre cepas de EC-BLEE en ganado de Tamaulipas. Por lo que los actuales resultados brindan una primera evaluación de la situación actual, mostrando los potenciales riesgos que las cepas EC-BLEE representan y sirviendo como base para posteriores estudios.

**Conclusiones y perspectivas.** La existencia de cepas ESBL-EC en animales destinados para el consumo humano indica un foco de atención en el problema de la resistencia bacteriana. Además, es importante mencionar que un alto porcentaje de estas cepas eran multiresistentes. Resultados como los aquí expuestos nos indican la importancia de los estudios de monitoreo continuo de la resistencia bacteriana en los diferentes reservorios.

**Agradecimientos.** Al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo brindado (SIP 20196484, SIP20211218 and SIP 20222002). A CONAHCYT por la beca para estudio de posgrado. A BEIFI por la beca para participar en proyectos de investigación. A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Tamaulipas por el apoyo brindado para el muestreo.

### Referencias.

- Ghimpeanu, O. M.; Pogurschi, E. N.; Popă, D. C.; Dragomir, N.; Drăgoteiu, T.; Mihai, O. D.; Petcu, C. D. 2022 Antibiotic Use in Livestock and Residues in Food—A Public Health Threat: A Review. *Foods*. 11 (1430): 1-25.
- Murray, C. J. L.; et al. 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 399 (10325): 629-655.
- Nossair, M. A.; Abd El Baqy, F. A.; Rizk, M. S. Y.; Elaadli, H.; Mansour, A. M.; El-Aziz, A. H. A.; Alkheadaie, A.; Soliman, M. M.; Ramadan, H.; Shukry, M. 2022. Prevalence and Molecular Characterization of Extend-ed-Spectrum  $\beta$ -Lactamases and AmpC  $\beta$ -lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* among Human, Cattle, and Poultry. *Pathogens*. 11 (852): 1-15.
- Benavides, J. A.; Salgado-Caxito, M.; Opazo-Capurro, A.; González Muñoz, P.; Piñeiro, A.; Otto Medina, M.; Rivas, L.; Munita, J.; Millán, J. 2021. ESBL-Producing *Escherichia coli* Carrying CTX-M Genes Circulating among Livestock, Dogs, and Wild Mammals in Small-Scale Farms of Central Chile. *Antibiotics*, 10 (5): 510.
- Martínez-Vázquez, A. V.; Mandujano, A.; Cruz-González, E.; Guerrero, A.; Vázquez, J.; Cruz-Pulido, W. L.; Rivera, G.; Bocanegra, V. 2022. Evaluation of Retail Meat as a Source of ESBL *Escherichia coli* in Tamaulipas, Mexico. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 11(12):1795.
- CLSI. 2021. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31st ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute. 315 p.
- Clermont, O.; Bonacorsi, S.; Bingen, E. 2000 Rapid and Simple Determination of the *Escherichia coli* Phylogenetic Group. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 4555-4558.

## DISEÑO Y OBTENCIÓN DE DERIVADOS SEMISINTÉTICOS CON ACTIVIDAD POTENCIAL ANTIPARASITARIA Y ANTIBACTERIANA.

Diana Victoria Navarrete Carriola<sup>1,2</sup>, Michael P. Doyle<sup>1</sup>, Gildardo Rivera<sup>2\*</sup>.

1. Department of Chemistry, University of Texas at San Antonio, 78249 San Antonio, TX United States. 2. Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, 88710 Reynosa, México; +52 899 9243627; Fax: +52 899 9243628; gildardors@hotmail.com.

Palabras clave: Síntesis química, productos naturales, elucidación estructural, actividad biológica.

**Introducción.** Los productos naturales (NPs por sus siglas en inglés) son moléculas producidas de forma natural por cualquier organismo. Se consideran como una fuente de estructuras con una variedad de disposiciones y diferentes grupos funcionales. Los NPs se clasifican en metabolitos primarios y secundarios, los cuales han presentado diferentes actividades biológicas (5,6). Comúnmente, la cantidad disponible de los NPs en una planta es baja, aunque varios han sido aislados y caracterizados, para evaluar su potencial actividad biológica. Normalmente, se requieren pequeñas cantidades de los NPs para una evaluación farmacológica inicial; sin embargo, se necesitan cantidades mucho mayores para caracterizar a fondo la actividad farmacológica.

Los NPs han suscitado un gran interés debido a su potencial actividad biológica. Por lo que el desarrollo de estrategias novedosas para la síntesis de NPs siempre ha sido un objetivo importante en la síntesis orgánica. Adicionalmente, los NPs se pueden emplear como punto de partida para el diseño y síntesis de análogos (2,3,9), para mejorar la actividad biológica o reducir los efectos adversos.

En los NPs, los flavonoides sintéticos o semisintéticos que incluyen grupos hidroxilo, halógenos u otros anillos heteroatómicos, como piridina, o piperidina han demostrado tener una actividad antibacteriana a concentraciones inferiores a 1 µg/mL (8). Por otra parte, la síntesis de derivados semisintéticos del ácido clorogénico mejoró la actividad contra *Cryptococcus neoformans* y especies de *Candida* y la introducción de un grupo amino libre aumentó la actividad inhibitoria contra *Aspergillus fumigatus* (4). Por lo que, las modificaciones estructurales de los productos naturales y la obtención de sus derivados semisintéticos se consideran como fuentes valiosas para la obtención de fármacos nuevos con una gran variedad de actividades biológicas (6).

Adicionalmente, la obtención de derivados semisintéticos tiene como objetivo aumentar la selectividad y la acción terapéutica, mejorar las actividades fisicoquímicas y farmacocinéticas, así como crear compuestos patentables que coadyuven a simplificar el desarrollo de fármacos para el tratamiento de diversas enfermedades. Por ello este trabajo tiene como objetivo diseñar y obtener derivados semisintéticos con actividad potencial antiparasitaria y antibacteriana.

**Metodología.** El diseño y obtención de los derivados se basó en compuestos descubiertos recientemente (1) y hemos variado el sustituyente en la posición 4, así como el

sustituyente en la posición 5. En la posición 4 el sustituyente procede de productos naturales con grupos funcionales alcohol y en la posición 5 se incorporó productos naturales que contenían un grupo funcional cetona. Los nuevos derivados semisintéticos obtenidos serán caracterizados por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), resonancia magnética nuclear (RMN) y cromatografía líquida de ultra rendimiento acoplada a espectrometría de masas (UPLC/MS). En el caso de la evaluación biológica in vitro (antibacteriana y antiparasitaria) se realizará utilizando el método específico para la actividad biológica sobre cada microorganismo. La evaluación citotóxica in vitro se efectuará mediante una línea celular. La búsqueda de blancos farmacológicos se basará en características de las especies *M. tuberculosis*, *T. cruzi* y *L. mexicana*; en la base de datos SwissTarget. Los derivados semisintéticos obtenidos se someterán a la evaluación in silico con los blancos farmacológicos seleccionados a través de estudios de acoplamiento y dinámica molecular (Fig. 1).

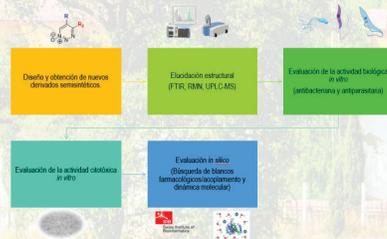


Figura 1. Metodología general

**Resultados y discusión.** Se ha realizado la síntesis de diazo compuestos a partir de productos naturales (Fig. 2). El rendimiento de los productos oscila entre 60-80%, lo cual concuerda con lo reportado por De Angelis et al. (2021).



Figura 2. Esquema de reacción para la síntesis de diazo compuestos

Por otra parte, se realizó la síntesis de derivados semisintéticos utilizando los diazo compuestos anteriormente sintetizados y los

productos naturales que contenían en su estructura un grupo cetona (Fig. 3), las estructuras de los compuestos sintetizados se establecieron mediante <sup>1</sup>H RMN, <sup>13</sup>C RMN. Los rendimientos de reacción oscilan entre 50-70%, aunque el rendimiento de estas reacciones se reporta en la literatura en un rango de 80-99% de rendimiento estas no realizan un cambio en la sustitución de R<sub>2</sub> lo cual puede atribuirse a una disminución del rendimiento. Sin embargo, se consideran buenos rendimientos de reacción.

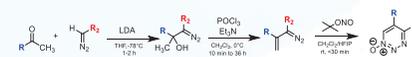


Figura 3. Esquema de reacción para la síntesis de derivados semisintéticos

Es preciso mencionar que las estructuras de los compuestos sintetizados se establecieron mediante <sup>1</sup>H RMN, <sup>13</sup>C RMN.

**Conclusiones y perspectivas.** Se diseñó y sintetizaron derivados semisintéticos a partir de productos naturales. La elucidación estructural se efectuó mediante RMN (<sup>1</sup>H RMN, <sup>13</sup>C RMN). Se espera que los nuevos derivados semisintéticos obtenidos presenten una actividad antibacteriana contra *M. tuberculosis* y antiparasitaria contra *T. cruzi*, *L. mexicana*, y *E. histolytica*

**Agradecimientos.** Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional, así como a The Rita and John Feik Endowment and The National Science Foundation.

### Referencias.

- De Angelis, L., Crawford, A. M., Su, Y.-L., Wherritt, D., Arman, H., & Doyle, M. P. 2021. Catalyst-Free Formation of Nitrile Oxides and Their Further Transformations to Diverse Heterocycles. *Organic Letters*. 23(3): 925-929.
- Devi, N; Borthakur, U; Saikia, A. 2021. Chapter 9 - Recent developments in the synthesis of bioactive natural products using Prins-type cyclization. En: Atta-ur-Rahman, *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier. 70: 265-312.
- Guo, Z. 2016. The modification of natural products for medical use. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 7(2): 119-136.
- Ma, C; Kully, M; Khan, J; Hattoric, M and Daneshitalaba, M. 2007. Synthesis of chlorogenic acid derivatives with promising antifungal activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 15:6830-6833.
- Maier, A. 2015. Design and synthesis of analogues of natural products. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 13 (19): 5302-5343.
- Majhi, S and Das, D. 2020. Chemical derivatization of natural products: Semisynthesis and pharmacological aspects- A decade update. *Tetrahedron*. 78: 131801
- Rivera G., De Angelis, L., Al-Sayed A., Biwas S., Arman, H., & Doyle, M. P. 2022. Synthesis of 1,2,3-Triazine Derivatives by Deoxygenation of 1,2,3-Triazine 1-oxides. *Organic Letters*, 4, 36: 6543-6547.

XXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

XXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

## SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ESTRUCTURAS MICROMÉTRICAS PARA LA INACTIVACIÓN DE MICROORGANISMOS EN PRESENCIA DE ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÁMICOS

Tania Libertad Alcázar Medina, Ana Adela Lemus Santana, José B. Proal Nájera\*.

Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Durango, Academia de Físicoquímica, correo electrónico: joseproal@hotmail.com, teléfono celular: 618-134-1781.

Palabras clave: Fotocatálisis solar, coliformes fecales, ZnO, TiO<sub>2</sub>

**Introducción.** De los principales fármacos que se encuentran en el medio ambiente son los antibióticos, los cuales, al tener una continua interacción con las bacterias, provoca mecanismos de resistencia inhabilitando la acción terapéutica del fármaco. La aparición de cepas resistentes a los antimicrobianos se ha extendido por todo el mundo, por lo que, para la Organización Mundial de la Salud (OMS) la resistencia a antimicrobianos es una de las principales amenazas (2). Dentro de los procesos de oxidación avanzada, se encuentra la fotocatalisis, la cual es una técnica, que a través de la generación *in situ* de especies reactivas de oxígeno (EROs), y en conjunto con un material catalizador, se pueden acelerar o propiciar reacciones, que como resultado llevan a la degradación de compuestos químicos altamente estables, así como la inactivación de microorganismos patógenos que no son eliminados por los métodos convencionales en las plantas de tratamiento de aguas residuales. El TiO<sub>2</sub> es el material semiconductor más empleado para los procesos fotocatalíticos, sin embargo, en dichos tratamientos con radiación solar, su utilidad se ve afectada por su salto de banda de alrededor de  $\approx 3.3$  eV, lo cual lleva a la búsqueda de nuevos materiales semiconductores o a la modificación del TiO<sub>2</sub> para aumentar la potencia del catalizador frente a las reacciones fotocatalíticas (1). Por lo que, el objetivo del presente trabajo es sintetizar un material con actividad fotocatalítica capaz de inactivar coliformes fecales presentes en aguas residuales municipales que se encuentren en presencia de antibióticos beta-lactámicos (en específico la amoxicilina) y que será utilizado como semiconductor en el proceso de fotocatalisis bajo radiación solar.

**Metodología.** La síntesis del material ZnO se realizó por medio del proceso de coprecipitación. El cual, una vez obtenido el xerogel, se calcinó a 400°C durante 3 horas. Posteriormente se caracterizó por difracción de rayos X (DRX), espectroscopia por infrarrojo (FT-IR) y análisis de reflectancia difusa (RDS). Para conocer la eficiencia en la inactivación de coliformes fecales provenientes de aguas residuales, se llevaron a cabo procesos fotocatalíticos solares heterogéneos, en un reactor de cama plana, sobre un vidrio esmerilado con una superficie de 0.01 m<sup>2</sup>, al cual se le impregnó el material sintetizado. Los experimentos se realizaron haciendo una comparación entre el TiO<sub>2</sub> Degussa P25 y el ZnO sintetizado, realizando tratamientos en distintos niveles de pH (5.8 y 7) y a diferentes dosis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 mM y 0 mM). Se analizó el comportamiento de estos procesos por medio de la técnica del número más probable (NMP) para el conteo de

coliformes fecales (3). Las muestras de coliformes fecales fueron tomadas de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) Sur, del Estado de Durango, Dgo.

**Resultados y discusión.** La caracterización del xerogel por el método FT-IR (Figura 1) mostró la presencia de enlaces O-H entre los 3000-3500 cm<sup>-1</sup>, esto por la humedad absorbida de los diferentes derivados de ácido cítrico, así mismo, en la región de 1600 a los 1390 cm<sup>-1</sup> se aprecian los estiramientos de los grupos carboxilatos (O-C=O) confirmando la quelación de los iones metálicos. Por otra parte, de los 1305 a los 1070 cm<sup>-1</sup>, se asignan las vibraciones de los enlaces C-O-C indicando la polirreacción del citrato metálico. Por debajo de los 1000 cm<sup>-1</sup>, se exhiben bandas de Metal-Oxígeno (M-O) o Metal-Oxígeno-Metal (M-O-M), siendo la banda pura del ZnO alrededor de los 400 cm<sup>-1</sup>. Así mismo, en el espectro inferior, se puede observar, que una vez calcinado el xerogel, las bandas desaparecen por evaporación y descomposición del precursor de citrato (4).

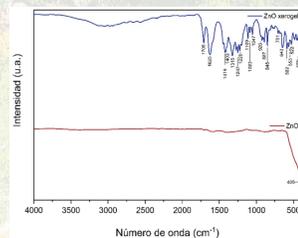


Figura 1. Análisis FT-IR del xerogel de ZnO y del ZnO puro.

Por otro lado, se observó que el análisis por DRX (Figura 2) concuerda con el patrón de referencia 01-089-7102 para ZnO, el cual expuso picos ubicados en 2 theta ( $\theta$ ) a los 31.77°, 34.42°, 36.25°, 47.54°, 56.60° y 62.85° correspondiendo a un plano de reflexión de estructura hexagonal.

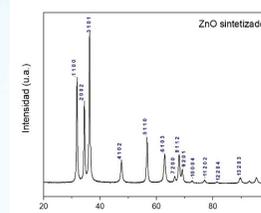


Figura 2. Análisis DRX de ZnO sintetizado

Posteriormente, el estudio por RDS se trató por medio de la Función de Kubelka-Munk (Figura 3), la cual nos ayuda a conocer la energía necesaria que el material debe de absorber para poder lograr el salto prohibido de banda o *band gap*, donde se obtuvo un valor de 3.23 eV, presentando una mayor eficiencia de absorción del espectro solar, observable en dicha figura.

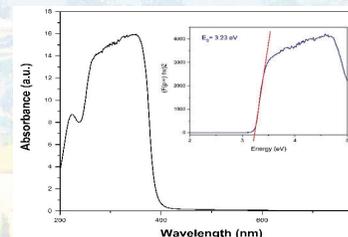


Figura 3. Espectro de absorción y función de Kubelka-Munk para el ZnO

Para los tratamientos tanto fotolíticos como fotocatalíticos solares, se realizaron experimentos blanco, es decir, en ausencia de luz, donde no se encontró proliferación de los microorganismos en el medio donde se encontraban. Una vez realizados estos experimentos control, se procedió a la realización de los tratamientos fotolíticos con radiación solar, en los cuales se observó que las mejores condiciones de inactivación de microorganismos es pH 7 con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alcanzando un 94.52%, seguido del pH de 5.8 con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, alcanzando un 90.42%, sin embargo, los procesos que no tenían H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, un porcentaje de inactivación menor (pH 5.8 con 78.88% o nulo (pH 7)). En los procesos fotocatalíticos, como se mencionó anteriormente, se realizó una comparación entre el TiO<sub>2</sub> y el ZnO. Ambos catalizadores demostraron una excelente actividad frente a la eliminación de coliformes fecales (Tabla 1), sin embargo, como se ya se ha reportado, dado que el ZnO además de tener ventaja sobre la

adsorción del espectro solar, también se caracteriza por tener propiedades bactericidas, posicionándolo como un mejor candidato para la inactivación de estos microorganismos.

Tabla 1. Actividad fotocatalítica del TiO<sub>2</sub> y el ZnO en diferentes niveles de pH y con distintas dosis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Tratamientos	Porcentajes de inactivación de coliformes fecales según el catalizador utilizado	
	TiO <sub>2</sub>	ZnO
pH 7	78.65	64.55
pH 7/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	94.49	97.96
pH 5.8	48.48	69.49
pH 5.8/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	97.66	98.89

**Conclusiones y perspectivas.** Se obtuvo ZnO como material semiconductor para procesos fotocatalíticos solares, el cual promete ser una excelente alternativa al convencional TiO<sub>2</sub>, ya que además de tener una mejor eficiencia de absorción, su efecto bactericida propicia un mejor desempeño para la inactivación de microorganismos.

**Agradecimientos.** Se expide el agradecimiento a los doctores y compañeros del laboratorio LNCAE del Centro de Investigación CICATA-Legaria.

### Referencias.

- González-Burciaga, L., Núñez-Núñez, C., Morones-Esquivel, M., Avila-Santos, M., Lemus-Santana, A., & Proal-Nájera, J. B. (2020). Characterization and comparative performance of TiO<sub>2</sub> photocatalysts on 6-mercaptopurine degradation by solar heterogeneous photocatalysis. *Catalysts*, 10(1), 118.
- Meléndez-Marmolejo, J., García-Saavedra, Y., Galván-Romero, V., de León-Martínez, L., Vargas-Berones, K., Mejía-Saavedra, J., & Ramírez, R. (2020). Contaminantes emergentes. Problemática ambiental asociada al uso de antibióticos. Nuevas técnicas de detección, remediación y perspectivas de legislación en América Latina. *Revista de Salud Ambiental*, 20(1), 53-61.
- Núñez-Núñez, C., Osorio-Revilla, I., Villanueva-Fierro, I., Antileo, C., & Proal-Nájera, J. (2020). Solar fecal coliform disinfection in a wastewater treatment plant by oxidation processes: Kinetic analysis as a function of solar radiation. *Water*, 12(3), 639.
- Santiago, L., Salazar, A., Moreno, J., Hernández, O., & Martínez, B. (2022). Fe-Zn-Ti combined systems as photocatalysts for hydroxyl radicals production in sunlight. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47(74), 31888-31902.

## MICROENCAPSULADOS DE *DICTYOTA DICHOTOMA* Y *BACILLUS LICHENIFORMIS* (CBHIPN2016) COMO ESTIMULANTES DEL PROCESO DE MUDA DE *CALLINECTES ARCUATUS*

Jose Alonso, Medina-Parra, Genaro, Diarte-Plata\*, Ruth, Escamilla-Montes, Antonio Luna-González, Magnolia Montoya-Mejía, María Elena Santos-Cervantes.

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional de Sinaloa. Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes 250. Col. San Joachin CP 81100, Guasave, Sinaloa Tels.: 687 872 96 25, 687 872 96 26 extn. 87649, gdiarte@iprn.mx

Palabras clave: Macroalgas, *Dictyota dichotoma*, *Bacillus licheniformis*, jaba mudada, microcápsulas.

**Introducción.** *Callinectes arcuatus*, conocida comúnmente como jaba azul, es un organismo de amplia abundancia y distribución en las costas del territorio mexicano, convirtiendo a la pesca de este organismo una de las fuentes de ingreso más importantes para los pobladores ribereños de las diferentes cooperativas y campos pesquero del país, donde se procesa la jaba y se exporta enlatada en diferentes presentaciones (carne de jaba). Sin embargo, existe un nuevo producto el cual se le conoce como jaba mudada o jaba suave, que por sus propiedades organolépticas la convierte en un producto de gran valor comercial. La jaba suave se obtiene cuidando los intervalos de los ciclos de muda, es decir que en el momento preciso cuando la jaba se libera de su exoesqueleto es justo cuando se debe extraer del agua y prepararse para ser consumida o exportada (2). Es así como el Ciclo de muda, también conocida como ecdisis, es la serie de procesos mediante el cual la jaba cambia su exoesqueleto

**Planteamiento del problema.** La administración de microcápsulas de alginato de macroalga *Dictyota dichotoma* y *Bacillus licheniformis*, reducen el tiempo de muda y mejoran positivamente la composición bioquímica de la carne de jaba.

**Justificación.** La demanda de alimento se vuelve cada vez más alta y difícil de cubrir y las pesquerías no logran satisfacerla, así que se opta por la producción de organismos para consumo humano a nivel de cultivo para diferentes organismos, donde debido a las altas densidades de siembra los organismos meta se vuelven vulnerables a enfermedades, entonces se plantea el uso de probióticos y macroalgas (aditivos alimenticios) que con ayuda de la microencapsulación los aditivos alimenticios llegaran intactos al intestino, donde se liberaran y mejoraran el metabolismo de la jaba y podrán eficientizar el ciclo de la muda, mismo que facilitará la producción de jaba suave.

**Objetivo general.** Evaluar el efecto de los micro encapsulados por gelación iónica de la macroalga *Dictyota dichotoma* (Dd) y *Bacillus licheniformis* (B) (CBHIPN2016) como estimulantes para reducir el tiempo en el proceso de la muda de la jaba azul *Callinectes arcuatus* a diferentes temperaturas.

por uno nuevo de mayor tamaño mismo que le permite crecer y este proceso de muda se efectúa a lo largo de la vida de la jaba, con variabilidad de frecuencia, disminuyendo la frecuencia conforme la jaba va adquiriendo edad (5).

Hay factores internos que provocan la ecdisis, por ejemplo: el metabolismo o cambios hormonales, también existen factores externos que pueden provocar que una jaba mude el exoesqueleto, por ejemplo: la temperatura, la salinidad o algunas lesiones. Conociendo esto, se puede utilizar la implementación de aditivos en los alimentos que nos ayuden a eficientizar o apurar el ciclo de muda aditivos con propiedades nutricionales y probióticas como el caso de *Dictyota dichotoma* y *Bacillus licheniformis*. Que, con ayuda de la técnica de microencapsulación, se logra que los aditivos probióticos lleguen intactos al intestino de la jaba, para poder mejorar el metabolismo de la jaba logrando modificar y eficientizando el tiempo de proceso de muda (6).

**Objetivos particulares.** 1. Caracterizar a nivel bioquímico la macroalga *Dictyota dichotoma* (Dd). 2. Caracterizar a nivel bioquímico la cepa de *Bacillus licheniformis* (B) (CBHIPN2016). 3. Obtener microencapsulados de la macroalga (Dd) y bacilo (B) por medio de gelación iónica. 4. Evaluar las características fisicoquímicas y estabilidad de los microencapsulados de la macroalga (Dd). 5. Evaluar las características fisicoquímicas, viabilidad y eficiencia de microencapsulación de las cápsulas de *Bacillus licheniformis* (CBHIPN2016). 6. Estimar el efecto de los microencapsulados de la macroalga (Dd) y bacilo (B) en la bioquímica del músculo durante el proceso de la muda de *C. arcuatus* a diferentes temperaturas (20 y 30° C).

### Estrategia metodológica.

Colectar (macroalga), secar, moler y analizar mediante HPLC (algas).

Aislar *B. licheniformis*, realizar prueba de hemolisis, determinar Morfología, arreglo celular y tinción de Gram, Adhesión microbiana a solventes, Auto agregación y coagregación, formación de biofilm, cinética de crecimiento, conteo de UFC/ml, Tolerancia a la salinidad y pH, Actividad enzimática extracelular, Prueba de degradación de la caseína, Prueba de hidrólisis de la gelatina, Prueba de hidrólisis de Tween 80, Resistencia a los antibióticos, Antagonismo contra *V. parahaemolyticus*.

Obtener microcápsulas, introducir por separado el polvo de alga y aislado bacteriano en solución de alginato de sodio y aceite vegetal, emulsionar, introducir en cloruro de calcio y secar (4).

Mantener las microcápsulas en oscuridad, 0,15, 30 y 45 días, determinar %EE.

Determinar Tamaño de partícula y potencial zeta, La morfología de las microcápsulas, espectros infrarrojos. Determinar % viabilidad y %EE.

Alimentar jabas en cultivo durante 45 días, densidad de 11 organismos 7.5 cm ac (1)/lína, administrar microencapsulados con ayuda de filete de pescado:

T1: control (filete de pescado)

T2: capsulas vacías (filete con microcápsulas)

T3: filete de pescado con *B. licheniformis* + *D. dichotoma*.

T4: filete de pescado con microcápsulas de *B. licheniformis* + *D. dichotoma*.

Determinación de proteínas, carbohidratos y lípidos.

**Resultados esperados.** Microcápsulas de alginato de sodio (gelación iónica) (Figura 1.) de macroalga *Dictyota dichotoma* y *Bacillus licheniformis* (CBHIPN2016) con características fisicoquímicas y una viabilidad eficiente, así como la capacidad de disminuir el tiempo en el proceso de muda (jaba suave) de los adultos de la jaba azul *Callinectes arcuatus*.



Figura 1. Microcápsulas de alginato de sodio (gelación iónica) (3).

### Referencias.

- Diarte Plata, G. (2016). Ecología de las jabas del género *Callinectes* en la laguna El Colorado, Ahome, Sinaloa. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, BCS, México. 198 P.
- Labastida-Che, A. y Núñez-Che, A. y Núñez-Orozco, A. Parámetros biológicos de *Callinectes arcuatus* y Orozco, A. Parámetros biológicos de *Callinectes arcuatus* y *Callinectes bellicosus* en el sistema lagunar Mar Muerto, Oaxaca-Chiapas, México, Ciencia Pesquera (2015) número especial 23: 27-34.

3. Medina-Contreras, E. G. Imágenes de Microcápsulas de alginato de sodio (gelación iónica).

4. Vega-Carranza, A. S., Cervantes Carranza, A. S., Cervantes-Chávez, J. A., Luna Chávez, J. A., Luna-Bárceñas, G., Luna Bárceñas, G., Luna-González, A., González, A., Diarte-Plata, G., Nava Plata, G., Nava-Mendoza, R., Mendoza, R., Pool, H. (2021). , Pool, H. (2021). Alginate microcapsules as Alginate microcapsules as delivery and protective systems of delivery and protective systems of *Bacillus licheniformis* in a simulated shrimp's in a simulated shrimp's digestive tract. digestive tract. Aquaculture, 540 doi:10.1016/j.aquaculture.2021.736675.

5. Vega-Villasante, F., Cortes Villasante, F., Cortes-Jacinto, E., Reyes, E., Reyes Juárez, A., A., Cupul Magaña, F.G. (2006). Manual Técnico para Manual Técnico para la producción de jaba suave en el Pacífico Mexicano. Universidad de Guadalupe. Centro Universitario de la Costa, Jalisco, México, 76 P.P.

6. Villamil-Díaz L. y Martínez-Silva M. A. (2009). PROBIÓTICOS COMO HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA EN EL CULTIVO DE CAMARÓN: RESEÑA Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia. luisa.villamil@utadeo.edu.co (L.V.D.), maria.martinez@utadeo.edu.co (M.A.M.S.).

## RELACIÓN DE POLIFENÓLES/PROTEÍNAS Y SU EFECTO SOBRE LA FUNCIONALIDAD DEL POLLEN DE *Apis mellifera*

Nancy Noemí Rodarte Rodríguez, José Antonio Ávila-Reyes.

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional, Sigma 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, Durango 34220, México.

\* Email: jaavre@yahoo.com.mx; Tel/Fax: 52 618 8142091; Tel: 52 55 57296000 ext. 82603.

Palabras clave: Polen apícola, polifenoles, proteínas, antioxidante, hipoglucemiante.

### Introducción.

El polen apícola, es un producto fabricado con polen de flores mezclada con néctar y secreciones propias de las abejas *Apis mellifera* L., el cual cuenta con alta demanda para consumo como alimento con alto valor nutricional y como alimento funcional, debido a su alto contenido de proteínas y de compuestos polifenólicos, principalmente flavonoides (2). Existe la evidencia de que ciertos compuestos de origen fenólico poseen propiedades hipoglucemiantes, así como incidencia positiva sobre patologías asociadas al estrés oxidativo (3). Las interacciones entre las proteínas vegetales y los compuestos fenólicos se producen de forma natural en muchos productos alimentarios. Los complejos polifenoles-proteínas presentan a menudo una digestibilidad in vitro mejorada, actividad antioxidante y actividades potenciales de reducción de alergias. Por consiguiente, pueden utilizarse como emulsionantes antioxidantes, aditivos de películas comestibles, nanopartículas e hidrogeles en la industria alimentaria (4). Sin embargo, la unión de los polifenoles a proteínas puede ser beneficiosa o perjudicial para su aplicación en los alimentos. Por un lado, la unión puede mejorar las propiedades fisicoquímicas y ampliar el rendimiento funcional, y por otro, puede tener efectos adversos en el rendimiento proteínico, como la introducción de sabores amargos o astringentes, decoloración y efectos antinutricionales (3). Aún son escasos los estudios centrados en la aplicación de estos complejos en alimentos reales. Hasta ahora no se han discutido las características estructurales y las propiedades funcionales de los conjugados o complejos polifenoles-proteínas (4).

El polen apícola tiene una vida de anaquel larga, por lo tanto, durante su almacenamiento los compuestos polifenólicos se oxidan y sus productos forman complejos estables o temporales con las proteínas (3), lo cual puede influir en el cambio de su funcionalidad (4). En la literatura científica hay mucha información sobre las características nutricionales y funcionales del polen, pero hay poca información sobre la dinámica bioquímica que ocurre entre los componentes proteínicos y los compuestos fenólicos como consecuencia de las condiciones y el tiempo de almacenamiento y sus probables modificaciones (3). En el presente trabajo, se determinó la bioactividad de proteínas y fenoles, presentes en el polen apícola de las dos temporadas más importantes de cosecha de miel del Estado de Durango y su efecto sobre la capacidad antioxidante y antiglicémica durante diferentes condiciones de vida de anaquel para determinar de forma más precisa el potencial uso que este producto pueda tener como alimento nutritivo y funcional.

### Metodología.

Colecta del material. Polen apícola del estado de Durango.

- Preparación de muestras y almacenamiento.
- Preparación y determinación de proteínas totales de las muestras por el método de Bradford (Bradford, 1976)
- Determinación de los contenidos de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) y flavonoides totales por el método de AICI<sub>3</sub> (Ordoñez et al., 2006).
- Determinación de la formación de complejos polifenoles/proteínas por cambios en los perfiles electroforéticos, de HPLC-DAD (Campos y Markham, 2007), y en FTIR.
- Determinación del cambio en la capacidad hipoglucemiante mediante la capacidad inhibidora de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa (Kim et al., 2010) y  $\alpha$ -amilasa (Kim et al., 2011).
- Determinación de la capacidad antioxidante de las muestras por medio de los ensayos de bloqueo del radical libre DPPH (Lue et al., 2010) y reducción de hierro (Lue et al., 2010).
- Análisis estadístico de datos.

### Resultados y discusión.

Con la identificación del origen botánico del polen apícola se obtuvieron las siguientes especies de plantas como las fuentes principales de néctar y polen floral para *Apis mellifera* L. en la región de colecta, con los números de voucher del 60193 al 60197 respectivamente.

#### SOLANACEAE

A. *Solanum rostratum* Dunal

#### ASTERACEAE

B. *Tithonia tubaeformis*

C. *Bidens odorata* Cav.

D. *Cosmos bipinnatus* Cav.

E. *Adenophyllum cancellatum* C.

#### PROSOPIS

F. *Prosopis laevigata*



Figura 1. Plantas identificadas como el origen botánico de cada uno de los colores obtenidos del polen apícola multifloral. A; *Solanum rostratum*. B; *Tithonia tubaeformis*. C; *Bidens odorata*. D; *Cosmos bipinnatus*. E; *Adenophyllum cancellatum*.

Cuadro 1. \*Contenido de flavonoides con respecto al control de polen obtenido al inicio de la cosecha

Tiempo (meses) ↓	Flavonoides (mgEQ/gES)					
	P. Multifloral	P. Naranja 1	P. Naranja 2	P. Verde	P. Amarillo	P. Café
0	19.52	19.45	19.81	19.99	20.67	19.13
1 (Temp Amb)	18.12	18.45	18.49	18.29	18.31	18.47
1 (2°C)	19.17	19.42	19.11	19.35	19.44	19.01
1 (-2°C)	19.48	19.55	19.66	19.92	21.04	19.63

mgEQ/ges = miligramos de equivalentes de quercetina/ gramos de extracto seco

Cuadro 2. \*Contenido de taninos con respecto al control de polen obtenido al inicio de la cosecha

Tiempo (meses) ↓	Taninos (mgEQ/gES)					
	P. Multifloral	P. Naranja 1	P. Naranja 2	P. Verde	P. Amarillo	P. Café
0	15.92	12.13	15.75	16.64	16.34	16.05
1 (Temp Amb)	13.45	11.50	14.55	15.48	15.50	14.53
1 (2°C)	15.75	11.95	15.74	15.68	15.25	15.17
1 (-2°C)	15.52	12.10	15.54	15.34	15.53	15.36

mgEQ/ges = miligramos de equivalentes de quercetina/ gramos de extracto seco

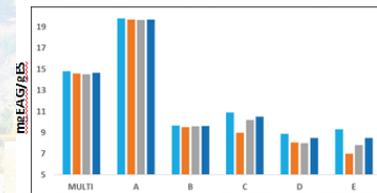


Figura 2. Contenido de fenoles totales de polen multifloral y sus componentes al inicio de la cosecha con respecto a los primeros tiempos de análisis.

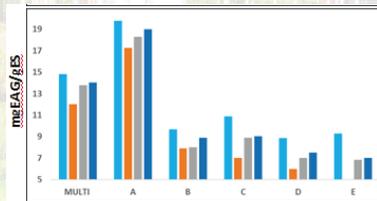


Figura 3. Contenido de fenoles totales de polen multifloral y sus componentes al inicio de la cosecha con respecto a los últimos tiempos de análisis.

### Conclusiones y perspectivas.

Existen diferencias importantes en los contenidos de compuestos fenólicos y en las bioactividades entre los polen frescos y almacenados durante dos meses, bajo cualquiera de las temperaturas evaluadas. La temperatura puede ser un factor más importante que el tiempo para generar variaciones.

Con los resultados obtenidos en la realización de las pruebas de DPPH, poder reductor de hierro, determinación de fenoles y proteínas totales, se observa hay tendencia del polen almacenado a temperatura ambiente a cambiar más que las muestras almacenadas en refrigeración, por lo cual se estima que la variación originada es debido a la temperatura y no al paso del tiempo, sin embargo, será determinante ver los valores obtenidos en los siguientes estudios. La variación en la determinación de proteínas fue poca, lo que preliminarmente indica menos degradación con respecto al contenido fenólico, lo cual coincide con estudios realizados en 2015 (3).

La capacidad de inhibición enzimática fue alta en el polen fresco y almacenado durante los primeros tiempos de muestreo, observándose una disminución considerable en las muestras con mayor tiempo de almacenamiento bajo todas las condiciones evaluadas.

Agradecimientos. A los Doctores Ávila Reyes y Almaraz Abarca.

### Referencias.

- Almaraz-Abarca, N., Campos, M. G., Ávila-Reyes, J. A., Naranjo-Jiménez, N., Herrera-Corral, J., González-Valdez, L. S. (2004). Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. *Interacción* 29, 574-578.
- Almaraz-Abarca, N., Campos, M. G., Ávila-Reyes, J. A., Naranjo-Jiménez, N., Herrera Corral, J. (2007). Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 119-124.
- Bruzynski, K., Maldonado-Álvarez, L. (2015). Poliphenol-protein complexes and their consequences for the redox activity, structure and function of honey. A current view and new hypothesis- A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 65, 71-80.
- Yan, X., Zeng, Z., McClements, D. J., Gong, X., Yu, P., Xia, J., & Gong, D. (2023). A review of the structure, function, and application of plant-based protein-phenolic conjugates and complexes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22, 1312-1336.

## ELABORACIÓN DE LIPOSOMAS TRANSPORTANDO MATERIA INSAPONIFICABLE E HIDROLIZADO DE PROTEÍNAS DE AMARANTO PARA EL TRATAMIENTO *IN VITRO* DE CÁNCER COLORRECTAL

M. en C. Jorge Oswaldo Gutiérrez López, Dra. Gloria Dávila Ortiz\*, Dr. Erick Damián Castañeda Reyes.

Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Adolfo López, Ciudad de México, 07738, México. Teléfono (55)57296000, ext. 57870, correo electrónico: gdavila@ipn.mx.

Palabras clave: Amarantho, lunasina, cáncer, colorrectal, liposoma, péptido.

**Introducción.** El cáncer es un problema de salud que afecta a millones de personas, siendo el cáncer colorrectal el tercer lugar a nivel mundial por su tasa de mortalidad y cuyos tratamientos muestran efectos no deseados en el paciente; por lo cual, se sigue en la búsqueda de moléculas que no exhiban dichos efectos. En estos últimos años se han utilizado compuestos presentes en fuentes de origen vegetal, entre los cuales se encuentra el péptido lunasina de soya y de otros granos como el péptido similar a la lunasina descubierto en las semillas de amaranto, SimLun, que manifiestan actividad anticancerígena<sup>4, 7, 8</sup>; además, la materia insaponificable de amaranto contiene compuestos antioxidantes que pueden contribuir a este efecto<sup>2</sup>. Con estos antecedentes, el presente trabajo pretende la formulación de un liposoma que transporte materia insaponificable e hidrolizado de proteínas de amaranto para su uso como posible terapéutico en el tratamiento de cáncer colorrectal.

**Metodología.** Para la elaboración de los liposomas, a partir de harina de amaranto se extraerá por fluidos supercríticos el aceite de amaranto, del cual se obtendrá la fracción insaponificable. Posteriormente, se producirá un anticuerpo policlonal anti-SimLun y a la par se extraerá por solubilidad las fracciones proteicas que serán concentradas y liofilizadas para posteriormente purificar SimLun por cromatografía de afinidad con el anticuerpo; después, se realizará la hidrólisis con tripsina y caracterizará por Western Blot, MALDI-TOF y ELISA. Estas fracciones se encapsularán en liposomas y estos se caracterizarán por dispersión dinámica de la luz y Cryo-TEM; finalmente, se probarán en líneas celulares de cáncer colorrectal para verificar su efecto citotóxico (figura 1).



### Resultados y discusión.

**Análisis Químico Proximal de la Harina de Amaranto.** Los resultados del análisis químico proximal realizado a la harina de amaranto (*Amaranthus hypochochrydus* variedad Nutrisol) dieron como resultado un 9.91 % de humedad, y en base seca 3.27 % de

cenizas, 14.27 % de proteínas, 8.43 % de extracto etéreo y 74.03 % de carbohidratos; estos resultados son cercanos a aquellos en la literatura<sup>1</sup> donde se reporta en base seca 3.5 % de cenizas, 15.8 % de proteínas, 6.9 % de extracto etéreo y 71.4 % de carbohidratos. Como se observa que existen diferencias posiblemente relacionadas al cultivo y almacenamiento de los granos.

**Análisis Electroforético de las Fracciones Proteicas.** Las fracciones proteicas liofilizadas fueron analizadas por electroforesis para corroborar la presencia del péptido SimLun. El análisis del gel electroforético permitió ver bandas de alrededor de 22 kDa para las fracciones de albúminas, globulinas y glutelina, esto concuerda con la banda reportada en diversos artículos<sup>4, 7, 8</sup> de la fracción en donde se encuentra SimLun.

**Análisis *in silico* de la Hidrólisis de las Fracciones Proteicas con Tripsina.** La SimLun, contenida dentro de la fracción de las glutelinas, puede ser hidrolizada utilizando tripsina que corta en las posiciones del carboxilo de residuos arginina (Arg) o lisina (Lys). Esto se ha comprobado por un estudio *in silico*, utilizando los softwares ExPASy PeptideCutter tool<sup>3</sup> y BIOPEP-UWM for bioactive peptides<sup>5</sup>, en donde se sometió a la secuencia de la glutelina presentada por Maldonado-Cervantes et al. (2010) (figura 2) a una hidrólisis con tripsina y se observó que esta presenta una secuencia de la SimLun en los péptidos liberados por los cortes de tripsina (cuadro 1) coincidiendo con lo descrito en la literatura<sup>7, 8</sup>.

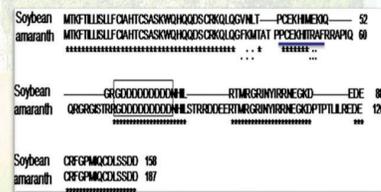


Figura 2. Secuencia del péptido de amaranto similar a la lunasina (SimLun) (Maldonado-Cervantes et al., 2010).

**Producción del Anticuerpo Policlonal de SimLun.** Análisis *in silico* para Obtener un Posible Epitopo. Tomando en cuenta los datos obtenidos acerca de la secuencia de SimLun antes mencionada<sup>4</sup> y basándose en la literatura para realizar un análisis *in silico* para determinar los posibles epitopos con respuesta inmunogénica<sup>5</sup> contenidos dentro de la estructura del péptido SimLun

de amaranto, se colocó la secuencia reportada en la figura 2 en tres servidores diferentes.

Cuadro 1. Presencia de SimLun en hidrolizados con tripsina *in silico*.

Secuencia Peptídica Resultante	Probabilidad de Escisión	Posición del Sitio de Escisión
MTK	100%	79
FTLLISLFLCIAHTCSASK	100%	99
WQHQQDSCR	45.30%	108
QLQGFK	100%	115
MTATPPCEK	100%	124
HITR	100%	128
AFR	78.30%	131
GISTR	90.90%	143
GDDDDDDDDNHILSTR	90.90%	161

Nota: En azul se resalta la secuencia de SimLun.

De los resultados arrojados por los servidores se eligió aquella secuencia peptídica con mayor incidencia KHITRAFRFR; esta estructura coincide parcialmente con la secuencia utilizada para generar el anticuerpo utilizado para lunasina. Además, para poder predecir la posición de este posible péptido inmunogénico en la proteína y así mismo ver su accesibilidad, con los datos reportados por Maldonado, et al. (2010) se realizó el modelado de la conformación tridimensional de la proteína (figura 3) en el servidor <https://swissmodel.expasy.org/interactive>. Los datos obtenidos permiten proponer que el lugar en el cual el epitopo se encuentra dentro de la estructura de SimLun, esto se muestra encerrado en un óvalo verde.

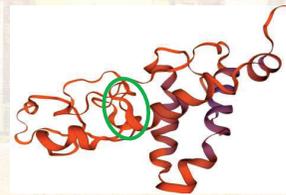


Figura 3. Estructura de SimLun y posición de la secuencia propuesta como posible epitopo.

**Conclusiones.** a) Los resultados del análisis químico proximal de la semilla de amaranto (*Amaranthus hypochochrydus* variedad Nutrisol) permiten ver que es una fuente de proteína y cuenta con una concentración adecuada de extracto etéreo en donde se encuentra la fracción insaponificable que pueden ser utilizados para la elaboración de liposomas; b) el análisis electroforético de los liofilizados de las fracciones de albúminas, globulinas y glutelinas de amaranto presentaron bandas de 22 kDa en donde se encuentra la SimLun; c) el análisis *in silico* de la digestión con tripsina concuerda

con los resultados reportados en la literatura; y d) a partir del análisis *in silico* para la obtención del epitopo de SimLun se determinó que la secuencia peptídica a utilizar es KHITRAFRFR.

**Perspectivas.** Estas fracciones serán concentradas y posteriormente hidrolizadas, para ser encapsuladas en liposomas que serán probados en líneas de cáncer colorrectal.

**Agradecimientos.** Se agradece el apoyo y colaboración de la Dra. Elvira González de Mejía, del Dr. Rubén López Santiago y del Dr. José Correa Basurto en el desarrollo del proyecto, así como en el tiempo e interés por el mismo.

### Referencias.

- Bojórquez-Velázquez, E., Velarde-Salcedo, A. J., De León-Rodríguez, A., Jiménez-Islas, H., Pérez-Torres, J. L., Herrera-Estrella, A., Espitia-Rangel, E., & Barba de la Rosa, A. P. (2018). Morphological, proximal composition, and bioactive compounds characterization of wild and cultivated amaranth (*Amaranthus spp.*) species. *Journal of Cereal Science*, 83, 222–228.
- Castañeda-Reyes, E. D., de Mejía, E. G., Eller, F. J., Berthou, M. A., Perea-Flores, M. de J., & Dávila-Ortiz, G. (2021). Liposomes loaded with unsaponifiable matter from amaranth hypochochrydus as a source of squalene and carrying soybean lunasin inhibited melanoma cells. *Nanomaterials*, 11(8), 1960.
- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Duvaud, S., Wilkins, M. R., Appel, R. D., & Bairoch, A. (2005). *Protein Analysis Tools on the ExPASy Server* 571 571 From: *The Proteomics Protocols Handbook Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server*.
- Maldonado-Cervantes, E., Jeong, H. J., León-Galván, F., Barrera-Pacheco, A., De León-Rodríguez, A., González De Mejía, E., De Lumen, B. O., & Barba De La Rosa, A. P. (2010). Amaranth lunasin-like peptide internalizes into the cell nucleus and inhibits chemical carcinogen-induced transformation of NIH-3T3 cells. *Peptides*, 31(9), 1635–1642.
- Martínez-Archundia, M., Ramírez-Salinas, G. L., García-Machorro, J., & Correa-Basurto, J. (2022). Searching Epitope-Based Vaccines Using Bioinformatics Studies. *Methods in Molecular Biology*, 2412, 471–479.
- Minkiewicz, P., Iwaniak, A., & Darewicz, M. (2019). BIOPEP-UWM Database of Bioactive Peptides: Current Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol. 20, Page 5978, 20(23), 5978.
- Montoya-Rodríguez, A., de Mejía, E. G., Dia, V. P., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2014). Extrusion improved the anti-inflammatory effect of amaranth (*Amaranthus hypochochrydus*) hydrolysates in LPS-induced human THP-1 macrophage-like and mouse RAW 264.7 macrophages by preventing activation of NF- $\kappa$ B signaling. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(5), 1028–1041.
- Silva-Sánchez, C., Barba De La Rosa, A. P., León-Galván, M. F., De Lumen, B. O., De León-Rodríguez, A., & González De Mejía, E. (2008). Bioactive peptides in amaranth (*Amaranthus hypochochrydus*) seed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(4), 1233–1240.

XXXI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

XXXVI Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, 18 al 20 de octubre del 2023, Ciudad de México

## DISEÑO Y FABRICACIÓN DE MATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE POLÍMEROS Y MATERIALES ORGÁNICOS CON POSIBLE APLICACIÓN EN LA ENDODONCIA REGENERATIVA.

Amairany Rodríguez Navarrete, Doris Atenea Cerecedo Mercado\*, Cesar Augusto Sandino Reyes López, Ivette Astrid Martínez Vieyra  
Doris A. Cerecedo Mercado, 55-2141-2981, dcereced@ipn.mx

Pulpa dental, endodoncia regenerativa, ingeniería de tejidos, células troncales mesenquimales, polímeros.

**Introducción.** La pulpa dental es tejido conectivo laxo que se encuentra en la cavidad pulpar de cada uno de los dientes, comprendiendo una población celular heterogénea, sus funciones es suministrar nutrientes y oxígeno, asimismo, la síntesis de dentina, recibir y transmitir señales sensoriales e inmunidad celular y humoral (1). Las enfermedades de la pulpa dental, como la pulpitis crónica o irreversible llegan a comprometer su vitalidad lo puede conducir a periodontitis apical, inflamación de tejidos blandos y reabsorción ósea lo que a menudo a largo plazo resulta en la pérdida de dientes (2). Actualmente, el tratamiento para las enfermedades pulpares es la endodoncia convencional, que consiste en retirar toda la pulpa dental dañada o necrótica del diente comprometido y sustituirlo por un material inerte como la gutapercha. Sin embargo, este tratamiento limita la administración de nutrientes e irrigación de los dientes, lo que conduce a una fragilidad del tejido residual de los dientes y en dientes permanentes inmaduros detiene el desarrollo dental (4). Por lo tanto, mantener la vitalidad de la pulpa es necesario para preservar el órgano dental y tejidos adyacentes. Actualmente, se han establecido enfoques para restaurar la viabilidad y regeneración del tejido pulpar, uno de ellos es la endodoncia regenerativa que se basa en células (células troncales mesenquimales (MSC)) y biomateriales (polímeros, cerámicos, metales etc.) con el objetivo de crear constructos tisulares que promuevan la regeneración y la reparación de la pulpa dental dañada o perdida, devolviendo su función (3).

**Justificación.** Actualmente, el tratamiento para las enfermedades pulpares es la endodoncia convencional, que consiste en retirar toda la pulpa dental del diente dañado y sustituirlo por un material inerte como la gutapercha. A pesar, de que la gutapercha es el único material empleado en el tratamiento de las enfermedades pulpares, carece de propiedades bioactivas, es decir, no promueve la síntesis de la dentina lo que hace susceptible al diente a la fractura y en presencia de reabsorción ósea. La gutapercha no promueve la regeneración y la reparación del tejido óseo, por lo que se requieren tratamientos secundarios como prótesis dental e injerto de hueso, entre otros. La endodoncia regenerativa tiene por objetivo crear constructos tisulares basados en una matriz (natural o sintética), moléculas y MSC, que permitan la regeneración y la reparación de la pulpa dental, entre otros tejidos adyacentes. Para ello, se necesita tener conocimiento básico de como las propiedades físicas, químicas, biológicas y moleculares influyen en la interacción matriz-MSC y en el destino celular, para su posible aplicación clínica.

### Objetivo general.

Desarrollar y analizar matrices híbridas (polímeros-orgánicas), que sean compatibles con productos de degradación no tóxicos y que promuevan la regeneración del tejido pulpar para su posible aplicación en la endodoncia regenerativa.

### Objetivos particulares.

1. Diseñar y fabricar matrices a base de polímeros y componentes orgánicos.
2. Analizar las propiedades químicas y físicas de las matrices.
3. Cultivar y caracterizar células troncales mesenquimales.
4. Analizar la citotoxicidad de las matrices.
5. Analizar la adhesión, la proliferación y la diferenciación *in vitro* de las MSC en las matrices.
6. Seleccionar las matrices con propiedades biológicas adecuadas para su posible aplicación en la endodoncia regenerativa.
7. Analizar el potencial de la matriz en la regeneración de pulpa dental *ex vivo*.

### Estrategia metodológica.

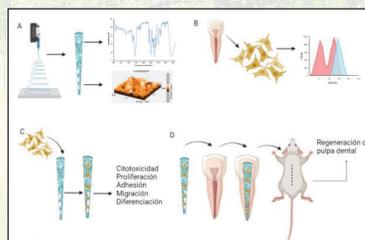


Figura 2. Diseño experimental. (A) La matriz de forma cónica se fabricará mediante la técnica de electrohilado, usando polímeros sintéticos y sus propiedades físicas y químicas serán analizadas por FT-IR, SEM, AFM, DSC y TGA. (B) Se obtendrán MSC de pulpa dental humana y el análisis del fenotipo de MSC se realizará por citometría de flujo. (C) Se analizará *in vitro* la citotoxicidad, la

proliferación, la adhesión, la migración y la diferenciación de las MSC en el constructo tisular (células + matriz) por MTT, SEM, expresión de proteínas de adhesión, expresión de genes odontogénicos y angiogénicos. (D) La regeneración de la pulpa dental promovida por el constructo tisular se analizará *ex vivo*, implantando el constructo tisular en dientes humanos, el cual será trasplantado subdérmicamente en ratas Wistar machos, n=6.

### Resultados esperados.

1. Obtener matrices cuya composición y productos de degradación sean biocompatibles de acuerdo a la NOM ISO 10993-5.
2. La composición y las propiedades físicas de la matriz promuevan la adhesión, la proliferación, la migración y la diferenciación de las MSC a los linajes odontogénico y angiogénico.
3. El constructo tisular fabricado para su posible aplicación en la endodoncia regenerativa promueva la regeneración del complejo dentino-pulpar.

### Referencias.

1. Dieterle MP, Gross T, Steinberg T, Tomakidi P, Becker K, Vach K, Kremer K, Proksch S. *Characterization of a Stemness-Optimized Purification Method for Human Dental-Pulp Stem Cells: An Approach to Standardization*. Cells. 2022 Oct 12;11(20):3204.
2. Gheisary Z, Mahmood R, Harri Shivanantham A, Liu J, Lieffers JRL, Papagerakis P, Papagerakis S. *The Clinical, Microbiological, and Immunological Effects of Probiotic Supplementation on Prevention and Treatment of Periodontal Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Nutrients. 2022 Feb 28;14(5):1036.
3. Huang X, Li Z, Liu A, Liu X, Guo H, Wu M, Yang X, Han B, Xuan K. *Microenvironment Influences Odontogenic Mesenchymal Stem Cells Mediated Dental Pulp Regeneration*. Front Physiol. 2021 Apr 22;12:656588.
4. Soares DG, Bordini EAF, Swanson WB, de Souza Costa CA, Bottino MC. *Platform technologies for regenerative endodontics from multifunctional biomaterials to tooth-on-a-chip strategies*. Clin Oral Investig. 2021 Aug;25(8):4749-4779.

## ESTUDIO DEL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE CHÍA Y AMARANTO

Hector Atonal Sánchez, Sílvia Luna Suárez\*

\*Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada- Instituto Politécnico Nacional, Carretera estatal Santa Inés Tecuexcomac- Tepetitla km 1.5, C.P. 90700, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México. E-mail: silvials2004@yahoo.com.mx

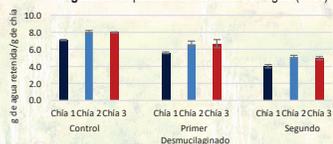
Palabras clave: Antihipertensión, Amaranto, Chía, ECA, Fermentación.

**Introducción.** La hipertensión arterial es una enfermedad que actualmente afecta 1 de cada 3 adultos, esta consiste en un aumento de la presión sanguínea la cual permanece constante (3). Hoy en día existen medicamentos para controlar esta enfermedad, ya que no tiene cura. No obstante, se siguen buscando alternativas que además aporten otros compuestos beneficiosos como: minerales, vitaminas, antioxidantes entre otros. En este sentido los alimentos ricos en proteína como chía y amaranto (2), pueden ser una alternativa, pues de ellos se pueden liberar por diferentes medios péptidos con función antihipertensiva, los cuales podrían inhibir a la enzima convertidora de angiotensina (ECA) una de enzimas responsables de elevar la presión sanguínea.

**Metodología.** Se compararán 3 diferentes semillas de chía y amaranto, las semillas de chía se desmucilaginarán. Se hará una molienda a ambas semillas, posteriormente se determinará la composición proximal de las harinas. Y observará su perfil proteico por medio de electroforesis en gel SDS-PAGE. Se observará como influyen las condiciones del tratamiento térmico sobre los medios de fermentación en la actividad inhibitoria sobre la ECA *in vitro*, antes y después de los tratamientos. Posteriormente se hará una fermentación, con una cepa de *Lactococcus* con medio a basa de harina de chía y otra con una cepa de *Lactobacillus*. y el mismo caso para la harina de amaranto, y se analizará la inhibición de la ECA *in vitro*, esto para obtener las mejores condiciones de fermentación. Después se escalará la fermentación y obtendrá un fermentado que servirá para realizar pruebas de toxicidad (con ratas) y se probará en ratas espontáneamente hipertensas.

**Resultados y discusión.** En la Figura 1 se observa la capacidad de retención de agua, es una medida indirecta de cuantificar la cantidad de mucilago presente en la semilla, y se logró remover un 39% de mucilago tras dos desmucilaginos. Este proceso es necesario para poder manipular la harina de chía en el medio de fermentación. Pues con el mucilago se forma una masa gelatinosa.

Figura 1.- Capacidad de retención de agua (CRA)



De la misma forma podemos ver en el cuadro 1, los resultados del análisis proximal de las harinas, la semilla de chía destaca en cantidad de proteína y la semilla de amaranto tiene en promedio una cantidad mayor de proteína que otras semillas como quinoa y trigo.

Cuadro 1.- Composición de las harinas usadas			
Muestra	% de ceniza	% de humedad	% de proteína
Amaranto	3.2 ± 0.4	9.6 ± 0.03	15.4 ± 0.7
Chía	4.08 ± 0.8	4.36 ± 0.5	22.5 ± 2.9
Quinoa (2)	3.27	13.28	14.12
Trigo (2)	2.23	10	13.27

En la figura 2 podemos observar el perfil proteico de los tres amarantos (A), nos percatamos que en el 1 y 3 tienen un perfil similar, no así para el 2, donde se aprecia muy poca proteína, pero esta degradada. También se muestra el perfil de la chía desmucilaginata (B) y natural (C). Aquí apreciamos que independientemente de este tratamiento se mantiene su perfil. Observar perfiles iguales es bueno ya que esto nos indica la repetibilidad que podemos esperar.

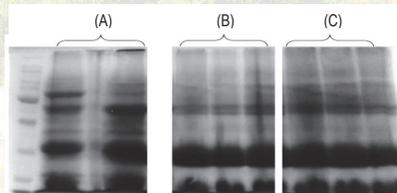


Figura 2.- Electroforesis en gel SDS-PAGE de las harinas.

**Conclusiones y perspectivas.** La cantidad de mucilago removido es este trabajo es superior a lo reportado por otros autores como (1) quienes reportan solo una remoción del 7%, pero no solo en la remoción. También por la manera de hacerlo, ya que en este trabajo solo se utiliza agua y secado en comparación con (1) quienes además usan solventes, sonicado, calentamiento, entre otros; lo cual resulta en un aumento económico y en tiempo. También se aprecia una cantidad mayor de proteína y esta es más consistente entre las diferentes semillas de chía en comparación con las de amaranto, lo que puede facilitar la repetibilidad del proyecto asegurando un perfil proteico similar en el medio de fermentación.

Agradecimientos. Al CONAHCyT por la beca

### Referencias.

- 1.- L. E. Farela, 2017 "Extracción y caracterización del mucilago de la semilla de chan (Salvia hispánica L.) para la determinación de los parámetros de aplicación como aditivo espesante en función a la concentración en mermelada de fresa," p. 140.
- 2.- M. Shahbaz *et al.*, 2022 "The nutraceutical properties and health benefits of pseudocereals: a comprehensive treatise," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 0, no. 0, pp. 1-13.
- 3.- R. Gupta, V. P. Gupta, H. Prakash, A. Agrawal, K. K. Sharma, and P. C. Deedwania, 2018 "25-Year trends in hypertension prevalence, awareness, treatment, and control in an Indian urban population: Jaipur Heart Watch," *Indian Heart J.*, vol. 70, no. 6, pp. 802-807.

## BIINGENIERÍA DE LA LEPTINA HUMANA Y OPTIMIZACIÓN DE SU PROCESO DE PRODUCCIÓN COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA DE LA OBESIDAD Y COMORBILIDADES.

Gabriel Ivan Ortega López, Víctor Eric López y López, Claudia Guadalupe Benítez Cardoza\*

\*Correspondencia: D. en C. Claudia Guadalupe Benítez Cardoza, Laboratorio de Investigación Bioquímica, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía-Instituto Politécnico Nacional. Tel: 5557296300 ext 55562, Correo electrónico: cbenitez@ipn.mx

Palabras clave: Bioingeniería, leptina recombinante y obesidad.

**Introducción.** La obesidad es un estado patológico caracterizado por el incremento excesivo de grasa corporal que es perjudicial para la salud, dado que puede derivar en comorbilidades de tipo metabólicas, mecánicas y psicosociales. Los factores genéticos, falta de actividad física, malos hábitos de alimentación y sedentarismo son algunas causas de obesidad. Debido al incremento de casos de obesidad es necesario generar nuevas alternativas terapéuticas; como el uso de leptina, una hormona peptídica de 146 aminoácidos (16 kDa), sintetizada mayoritariamente por el tejido adiposo blanco a partir del gen *Ob*. La leptina genera efectos anorexigénicos (disminución del consumo de alimento e incremento del gasto energético) después de activar la isoforma b de los receptores de leptina (Ob-R) ubicados en las neuronas del hipotálamo. Debido a sus efectos farmacológicos, se desarrolló la variante de leptina W100E para poder solubilizarla. La mutante W100E, ha mostrado efectos de pérdida de peso corporal similares a la leptina silvestre (WT). En nuestro equipo de trabajo, se han diseñado diversas variantes para mejorar la estabilidad estructural (BCH1 y BCH2) o para incrementar la afinidad de unión por el Ob-R (MR1). El tratamiento de 1 µg/g/día de estas variantes de leptina, durante 4 semanas, en grupos de ratones C57BL/6 obesos, inducidos por dieta alta en grasa, han mostrado normalizar el perfil lipídico y glucémico, en comparación con la variante WT. La Metreleptina, que tiene una metionina adicionada en el extremo N-terminal es la única variante de leptina aprobada para tratar lipodistrofia generalizada congénita y adquirida; sin embargo, sus rendimientos de producción son muy bajos, limitando su comercialización e incrementado los costos de tratamiento. Por lo tanto, en este trabajo buscamos aplicar la bioingeniería computacional y la ingeniería de proteínas para diseñar, producir y purificar variantes de leptina que promuevan la reducción de peso corporal y equilibren el perfil de lípidos y el índice glucémico. Adicionalmente, se optimizará el rendimiento de la producción de leptina recombinante, para emplearla como posible coadyuvante en el tratamiento integral de la obesidad y sus comorbilidades.

**Metodología.** El esquema general de la estrategia experimental consta de 3 etapas, *in silico*, *in vitro* e *in vivo*. En la primera etapa, se propusieron variantes de leptina mediante 2 estrategias: 1) selección de mutaciones puntuales en aminoácidos que forman parte de la interfaz de acoplamiento de la leptina, y que benefician la interacción de unión, obtenidas por el servidor en línea BeAMuSIC; y 2) combinaciones derivadas de las variantes de leptina BCH1, BCH2 y MR1. A todas las variantes se les realizó un análisis predictivo del cambio de energía de unión ( $\Delta G_b$ ) y de la dependencia de  $\Delta G_b$  por cambios de pH, fuerza iónica (I) y temperatura con el programa FoldX (1). También se estimó la contribución de entalpía y entropía sobre la

energía de unión de la formación del complejo entre las variantes de leptina y el dominio de unión del Ob-R. En la segunda etapa, seleccionamos la variante más destacada a partir de la inmunodetección de STAT3 y pSTAT3, para optimizar la producción y alcanzar mayores rendimientos a los reportados (2). Las variantes fueron diseñadas a partir de mutagénesis de sitio dirigido. Sobreexpresamos en matraz (500 mL) las diferentes variantes de leptina seleccionadas en la primera etapa y se purificaron a partir de cromatografías de afinidad y de intercambio iónico. Evaluamos la estructura secundaria y la estabilidad térmica de las variantes de leptina por dicroísmo circular. La actividad de STAT3 y pSTAT3 se evaluará en la línea celular MCF-10A mediante western blot empleando anticuerpos específicos. Se optimizará la producción y purificación de acuerdo con el análisis del método de superficie de respuesta Box Behnken y posteriormente produciremos en biorreactor la variante de leptina seleccionada. Evaluaremos nuevamente la estructura secundaria y la estabilidad térmica por dicroísmo circular. Y finalmente, en la tercera etapa evaluaremos el perfil de lípidos y el índice glucémico, así como el consumo de alimento y pérdida de peso corporal en ratones de la cepa C57BL/6, con el protocolo de inducción de obesidad por dieta alta en grasa y administración de 1 µg/g/día de la variante de leptina seleccionada durante 4 semanas.

**Resultados y discusión.** La construcción de los plásmidos pET19b mutagénicos que expresan las diferentes variantes de leptina propuestas, se visualizaron en gel de agarosa al 1%, ver figura 1. Estos plásmidos se secuenciaron para confirmar la mutación puntual en cada uno de ellos, datos no mostrados por propiedad intelectual.

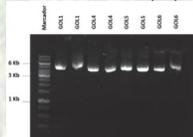


Figura 1. Gel de agarosa 1% que muestra el plásmido con las diferentes mutaciones.

Para la sobreexpresión de estas variantes de leptina (GOL1, 4, 5 y 6) se empleó la cepa de expresión de *E. coli* C41 transformada con los plásmidos pET19b. Se obtuvieron >2.5 mg de cada una de las variantes a partir de 500 mL de medio 2xYT. En la figura 2 se muestra el gel SDS-PAGE representativo en donde se observa la purificación hasta la homogeneidad de las variantes propuestas.

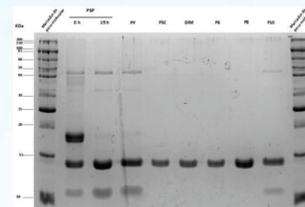


Figura 2. Purificación de las variantes de leptina por cromatografía iónica. PreSission Protease (PSP), proteína filtrada (PF), flujo de salida en columna Capto Q (FSC), desecho en la inyección de la muestra (DIM) y tracción 6-10 (F6-F10).

La etiqueta de histidinas en las recombinantes son afines a la columna de níquel permitiendo la separación. En la figura 2 la flecha azul señala una banda purificada hasta homogeneidad de aproximadamente 16 kDa, el peso molecular de leptina madura (3). La caracterización de la estructura secundaria de las variantes de leptina purificadas se muestra en la figura 3. Los espectros de dicroísmo circular de las variantes de leptina muestran la forma característica de una proteína rica en  $\alpha$ -hélice no enlazada (4). El servidor DichroWeb mostró que GOL1, 4, 5 y 6 están estructuradas por 86-87 % de  $\alpha$ -hélices y 13-14 % de *random coil*, al igual que la variante W100E. Las mutaciones puntuales en cada variante propuesta no modificaron la estructura secundaria de la proteína.

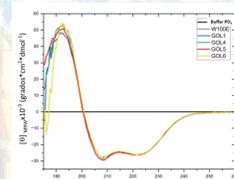


Figura 3. Espectros de dicroísmo circular representativo de las variantes de leptina. estructura secundaria en grafica principal y estabilidad térmica en grafica secundaria.

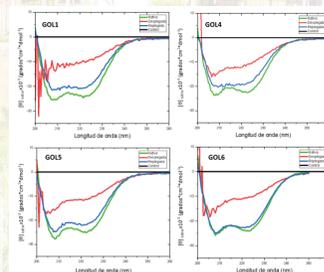


Figura 4. Estabilidad térmica de las variantes de leptina propuestas. Variante nativa (verde), desnaturada (rojo) y renaturada (azul) térmicamente.

En la figura 4 se muestran los espectros de dicroísmo circular de las variantes de leptina en sus estados nativos, desnaturadas y renaturadas térmicamente. Las variantes al ser calentadas pierden su estructura secundaria nativa, y la recuperan al enfriarse. GOL6 recuperó su estructura 95 % después de ser desnaturada. En la figura 5 se muestran las transiciones de estabilidad térmica para las variantes de leptina. Se puede apreciar un modelo de dos estados (nativa y desnaturada), sin embargo, la Tm para cada variante es diferente. GOL6 muestra ser la más estable a los cambios de temperatura, con una Tm de 68.54 ± 0.01 °C.

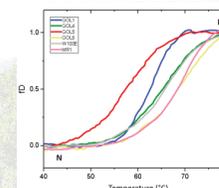


Figura 5. Transiciones de estabilidad térmica de las variantes de leptina propuestas

**Conclusiones y perspectivas.** Las variantes GOL1, GOL4, GOL5 y GOL6 fueron purificadas por cromatografía de afinidad y de intercambio iónico. La estructura secundaria de las variantes recombinantes son las idóneas. La variante GOL6 muestra recuperar su estructura nativa en mayor cantidad después de ser desnaturada, y también, es la más estable al incremento de temperatura

Se espera que las variantes activen pSTAT3 sobre la línea celular MCF-10A, con la finalidad de evaluar indirectamente la actividad de nuestras propuestas, y así seleccionar la variante más estable y con mayor actividad biológica.

**Agradecimientos.** A Productos Medix SA de CV, COFAA, PIFI y CONACYT por su apoyo económico para la investigación, a la SEPI de la ENMyH por sus instalaciones para realizar las investigaciones y al IPN por la oportunidad de pertenecer a esta casa de estudios.

### Referencias.

- Reyes-Espinosa, F., Juárez-Saldivar, A., Palos, I., Herrera-Mayorga, V., García-Pérez, C., & Rivera, G. (2019). In silico analysis of homologous heterodimers of cruzipain-chagasin from structural models built by homology. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1320.
- Jeong, K. J., Choi, J. H., Yoo, W. M., Keum, K. C., Yoo, N. C., Lee, S. Y., & Sung, M. H. (2004). Constitutive production of human leptin by fed-batch culture of recombinant rpoS- *Escherichia coli*. *Protein expression and purification*, 36(1), 150-156.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), 425-432.
- Miles, A. J., Ramalli, S. G., & Wallace, B. A. (2022). DichroWeb, a website for calculating protein secondary structure from circular dichroism spectroscopic data. *Protein Science*, 31(1), 37-46.

## GENOMIC AND ENZYMATIC ANALYSIS OF MICROORGANISMS CAPABLE OF DEGRADING LOW-DEGRADING AND RECALCITRANT PLASTICS

Aminat Shokunbi y Ninfa María Rosas García\*.

Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Centro de Biotecnología Genómica del IPN, Blvd del Maestro SN, Narciso Mendoza, Cp. 88710 Reynosa, Tamps. Teléfono 899 924 362Text. 87752 [nrosas@ipn.mx](mailto:nrosas@ipn.mx)

Palabras clave: *Plastics, Lipase-positive bacteria, Biodegradation, Enzymatic analysis, Genomic analysis.*

**Introducción.** Plastics remains one of the most essential and widely used materials in the world, this is due to their stability and durability emanating from their polymeric nature (Rivard *et al.*, 1995). Accumulation of plastics waste is an ever-increasing ecological threat due to heavy Usage of plastics. To get rid of the existing waste, natural and eco-friendly methods such as biodegradation which involves the use of microorganism is required. Biodegradation of plastics involves excretion of extracellular enzymes by the microorganism, attachment of enzymes to the surface of plastic, hydrolysis to short polymer intermediates which are ultimately assimilated by microbial cells as carbon source to release CO<sub>2</sub> (Fig. 1). Lipase-positive bacteria have been associated with polymer degradation due to lipid and polymer chain structural similarities and bacterial capability of cleaving water-insoluble compounds. The pure cultures of bacteria isolated from most environments show that bacteria have diversity and functionality. Through the identification of a large amount of data, species belonging to various bacterial phyla are able to degrade plastics (Anobonye *et al.*, 2021).

**Planteamiento del problema.** It is important to know that Low-degrading plastics are a major environmental pollutant, posing significant threats to ecosystem and human health due to their extensive use resulting to plastic waste accumulation in the environment. This waste can persist in the environment for hundreds of years. The ability to harness microorganisms to degrade plastics can potentially provide a sustainable and eco-friendly method for plastic waste disposal. It is evident that bacteria are able to degrade plastics. However, there are few research on the genomic and enzymatic analysis of plastic degrading bacterial. Therefore, this study aims to investigate Genomic and enzymatic analysis of microorganisms capable of degrading low-degrading and recalcitrant plastics.

**Justificación.** Low biodegradable and recalcitrant plastics are one of the most globally available materials as well as constitute some significant components of pollution in the environment. The use of microorganisms to remedy this problem can be an environmentally friendly and economical alternative. Micro-organisms in this polluted environment are an alternative for plastic degradation through their enzymatic activity which is equally dependent on the environment. Understanding how microorganisms can break down plastics help control pollution, the by-products from this process can be used as biofuels as well as in industrial processes, creating economic importance. For this reason, it is important to search for microorganisms with novel capacity to degrade plastics and to learn more about the genes associated with these functions, as well as to understand the enzymatic activity that participates in these processes in order to offer alternative solutions to the problem of plastic accumulation.

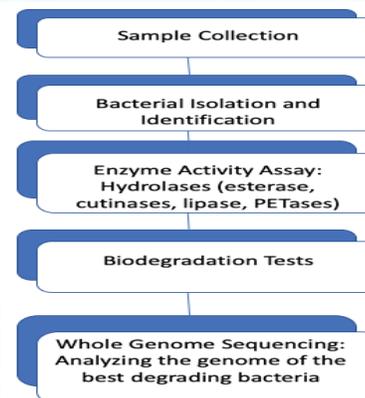
**Objetivo general.** To isolate and genomically characterize microorganisms whith the ability to degrade low-degrading and recalcitrant plastics.

### Objetivos particulares.

- 1 To isolate and identify microorganisms that have the ability to degrade plastics.
- 2 To analyze the enzymes involved in the plastic degradation process.
- 3 To analyze through spectrophotometric techniques, Field emission scanning electron microscope (FE-SEM) and Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy, the products resulting from the degradation process.

- 4 To analyze the genome of plastic-degrading bacteria.
- 5 To compare the whole genome sequence of selected bacterial with the best degrading ability.

### Estrategia metodológica.



**Resultados esperados.** It is expected that through genomic and enzymatic analysis, specific genes and enzymes responsible for plastic degradation by bacteria will be identified as well as obtaining new strains capable of degrading low-degrading and recalcitrant plastics.

### Referencias.

1. Amobonye, A., Bhagwat, P., Singh, S. and Pillai, S. (2021). Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. *Sci. Total Environ.* 759: 143536.
2. Gu, J.D. (2003). Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. *Int Biodeterio Biodegrad.* 52: 69–91.
3. Rivard C, Moens L, Roberts K, Brigham J, Kelley S. (1995). Starchesters as biodegradable plastics: E ffects of ester group chain lengthand degree of substitution on anaerobic biodegradation. *Enzyme andMicrobial Tech.* 17: 848-852.
4. Sabiha-Javied, Tufail, M.A., & Khalid, S. (2008). Heavy metal pollution from medical waste incineration at Islamabad and Rawalpindi, Pakistan. *Microchemical Journal.* 90, 77-81.

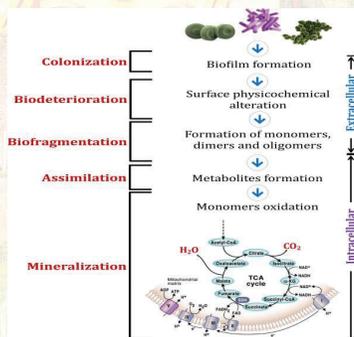


Figura 1. Plastic degradation by microbes (Gu, 2003).

## HIDROLIZADO DE CAMARONES INFECTADOS CON VIRUS DE LA MANCHA BLANCA (WSSV) ADICIONADO EN LA DIETA COMO INDUCTOR DE RESISTENCIA CONTRA ENFERMEDADES VIRALES EN CAMARÓN BLANCO (*Penaeus vannamei*).

Nallely Michelle Panduro López, Pindaro Álvarez Ruiz\*.

Dr. Pindaro Álvarez Ruiz, CIIDIR-Sinaloa, 687872926 Ext.87646 palvarez@ipn.mx

Palabras clave: Hidrolisis, virus, WSSV, inmunidad, camarón, IHHNV

**Introducción.** La camaricultura actualmente se ha convertido en una de las actividades agroalimentarias con mayor auge nacional e internacional. Según la FAO, el camarón blanco (*Penaeus vannamei*) representó el primer lugar de la producción mundial de crustáceos en 2020, colocándose dentro de las principales especies producidas por la acuicultura (2). En México, llegó a representar una tercera parte del volumen total de la producción acuícola nacional (3). Sin embargo, la mayor amenaza que afecta a la industria son las mortalidades causadas por enfermedades asociadas principalmente a patógenos virales. Algunos de los virus que afectan a los camarones son nombrados de acuerdo con sus características o signos que provocan. Uno de los más estudiados por su virulencia y letalidad es el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV). Por otro lado, el virus de la necrosis infecciosa hipodérmica hematopoyética (IHHNV) no causa mortalidades significativas en los cultivos, sin embargo, está asociado a tasas de crecimiento bajas y disparidad de tallas, mismas que deterioran la calidad de los camarones en la cosecha.

El sistema inmune del camarón se basa en una inmunidad innata caracterizada por la falta de memoria inmunológica lo cual obstaculiza la generación de anticuerpos contra patógenos específicos. En este sentido, se han evaluado estrategias aplicando virus inactivos a niveles sub-letales, virus inactivados, subunidades proteicas y terapia con ácidos nucleicos (4,7,1).

**Planteamiento del problema.** El aumento de la producción de camarón conlleva varios retos que impactan económicamente a los productores. En este sentido, la sanidad acuícola es un factor de vital importancia para el éxito del cultivo. Cuando los organismos son expuestos a condiciones inadecuadas y malos manejos, se propicia un ambiente de estrés y aumenta la susceptibilidad a patógenos como WSSV e IHHNV. Estos patógenos han sido responsables de enormes pérdidas económicas porque provocan altas mortalidades y mala calidad de los camarones al final del cultivo.

**Justificación.** A diferencia de los patógenos bacterianos, no existen alternativas como antibióticos para combatir los virus. Por lo tanto, el sistema inmune del camarón se tiene que hacer cargo. El desarrollo de vacunas no ha sido posible debido a la falta de memoria inmunológica que caracteriza a la inmunidad innata. Sin embargo, diversos autores han reportado la existencia de una respuesta antiviral inducida en organismos previamente expuestos al WSSV, alcanzando tasas de supervivencia superiores a 90 %. Esto sugiere la existencia de una respuesta de defensa antiviral específica en camarones, asociada a patrones moleculares de los patógenos como

lipopolisacáridos, betaglicanos y epitopos de proteínas virales. En este sentido, la hidrólisis proteica es un proceso químico o enzimático que busca generar a partir de una proteína, una serie de péptidos de menor tamaño (6). La hidrólisis puede ser efectuada ya sea químicamente (mediante ácido o álcali) o biológicamente (utilizando enzimas) (5).

Entonces, dado que los camarones presentan una respuesta inmune a las proteínas de los patógenos o a ciertas regiones de estas, y tomando en cuenta que un proceso de hidrólisis proteica implica la obtención de fragmentos de proteínas; la hipótesis de este estudio es que al hidrolizar el tejido de camarones infectados con WSSV se obtendrán fragmentos de las proteínas virales que al administrarse en la dieta promoverán una respuesta inmunológica específica contra WSSV e inespecífica contra IHHNV.

**Objetivo general.** Evaluar el efecto de la inclusión de hidrolizado de músculo de camarón infectado con WSSV en la dieta como inductor de resistencia en enfermedades virales como el WSSV e IHHNV.

### Objetivos particulares.

- Elaborar un hidrolizado de músculo de camarones infectados con WSSV (HC-WSSV).
- Determinar tiempo óptimo después de iniciar la hidrólisis proteica que promueva una respuesta inmune.
- Evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión y periodicidad de alimentación con HC-WSSV en la dieta; con énfasis en micro-dosis.
- Evaluar la capacidad del HC-WSSV, para prevenir la infección del síndrome de la mancha blanca (WSSV) en *P. vannamei*.
- Evaluar la capacidad del HC-WSSV, para disminuir o clarificar al IHHNV de camarones positivos.

### Estrategia metodológica.

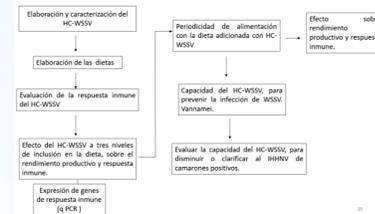


Figura 1. Esquema metodología general.

### Resultados esperados.

La inclusión del hidrolizado de músculo de camarón infectado con WSSV en la dieta, inmunostimulará a los camarones (*P. vannamei*), confirmando resistencia específica contra WSSV e inespecífica contra IHHNV.

### Referencias.

1. Boonyakida, J; Takafumi, N; Jun, S; Yoshiko, S; Tohru M. 2022. Immunostimulation of shrimp through oral administration of silkworm pupae expressing VP15 against WSSV. Fish and Shellfish Immunology. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.07.043>
2. FAO. 2022. El estado de la pesca y la acuicultura 2020. <https://www.fao.org/3/cc0461es/online/sofia/2022/aquaculture-production.html>
3. CONAPESCA. 2020. Acuicultura Camarón blanco del Pacífico. gob.mx. <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuicultura-camaron-blanco-del-pacifico#:~:text=Morfolog%C3%ADa%3A%20Cuerpo%20alargado%2C%20dividido%20en,cola%20pigmentado%20de%20color%20rojizo>
4. Kulkarni, A; Rombout, J; Singh, I; Sudheer, N; Vlak, J; Caipang, C. 2013. Truncated VP28 as oral vaccine candidate against WSSV infection in shrimp: An uptake and processing study in the midgut of *Penaeus monodon*. Fish & Shellfish Immunology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2012.10.028>
5. Pasupuleti, V; Braun, S. 2010. State of Art Manufacturing of Protein Hydrolysates. Protein Hydrolysates in Biotechnology. [http://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0\\_2](http://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_2)

6. Shan, H; Franco, C; Zhang, W. 2013. Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). Food Res Int. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.031>
7. Yang, W; Ngoc, T; Chun-Hua, Z; De-Fu, Y. 2021. Immune priming in shellfish: A review and an updating mechanistic insight focused on cellular and humoral responses. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735831>

## HISTORIA DE VIDA DE LA POBLACIÓN DE TORTUGA NEGRA (*Chelonia mydas agassizii*) EN EL SANTUARIO DE PLAYA COLOLA, MICHOACÁN, MÉXICO.

Cutzi Bedolla-Ochoa, Miguel Ángel Reyes-López \*, Hervey Rodríguez-González

Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Reynosa C.P. 88710, Tamaulipas, México. Tel.+52 (89) 9924 3627, ext. 87751  
mreyes@ipn.mx, mareyesl@gmail.com

Palabras clave: *Chelonia mydas agassizii*, historia de vida, diversidad genética, haplotipos, filogeografía.

**Introducción.** Una métrica que puede ayudar a predecir qué especies tienen más probabilidades de adaptarse a las condiciones futuras es la diversidad genética. En términos generales, la diversidad genética es cualquier medida que cuantifique la variabilidad dentro de una población en formas alternativas de genes o loci no codificantes. Estudios comparativos anteriores han demostrado que la estructura genética depende de los atributos ecológicos de las especies y de sus rasgos de historia de vida [1]. La historia de vida de un organismo es un estudio complejo, fundamental para el conocimiento de la ecología y la evolución de los organismos. Su objetivo es comprender cómo la selección natural moldea los rasgos de la historia de vida de los organismos que influyen directamente en su supervivencia y reproducción (tamaño corporal, tamaño del nido, fecundidad, intervalos remigratorios, edad de madurez sexual, etc.) que han evolucionado en respuesta a determinadas presiones de selección natural [2]. El estudio de la variación del ciclo biológico es un componente importante de la investigación evolutiva y ecológica [3].

**Metodología.** Para determinar los rasgos del ciclo de vida de la población anidadora de tortuga negra (*C. m. agassizii*) de la playa de anidación Colola, Mich. Méx., se analizaron datos morfométricos y reproductivos de 15 temporadas de anidación (1985-2000), se llevaron a cabo análisis estadísticos y cálculos matemáticos para determinar el tamaño corporal, tamaño del nido, tamaño de los huevos, fecundidad, intervalos remigratorios, edad de madurez sexual y tasa de crecimiento. Por otra parte, se realizaron estudios moleculares para conocer la diversidad genética de la especie para tal efecto, se colectaron muestras de sangre y tejido, se realizó la extracción, amplificación y secuenciación del ADN, se analizaron y se determinaron las divergencias genéticas, polimorfismos, haplotipos y diversidad nucleotídica utilizando los softwares Bioedit, MEGA 11.0, Iqtree, FigTree, DnaSP 5.10.01. Simultáneamente se analizaron las secuencias previamente reportadas en el National Center for Biotechnology Information (NCBI) y en Archie Carr Center for Sea Turtle Research (ACSTR).

**Resultados y discusión.** Se obtuvieron los valores promedio anuales del tamaño del corporal (LCC), el tamaño del nido, el tamaño de los huevos, la fecundidad, el intervalo de remigración, la edad de madurez sexual y la tasa de crecimiento de las hembras anidadoras de tortuga marina negra (*C. m. agassizii*) (Tabla 1). Estos rasgos del ciclo biológico son los más estudiados en las tortugas marinas.

Tabla 1. Valores obtenidos de los rasgos del ciclo biológico de la tortuga negra (*C. m. agassizii*)

Rasgos de historia de vida	Valores obtenidos
Tamaño corporal (cm)	85.7 cm LCC, 77.9 cm LRC
Tamaño de nido	69.3 huevos por nido
Tamaño (mm) y peso (gr) de huevo	42.1 mm, 41.5 gr
Fecundidad	196.4 huevos por temporada
Intervalos remigratorios	3 años
Edad de madurez sexual	24.2
Tasa de crecimiento	0.55-0.67 cm/año

Se realizaron 150 extracciones de las muestras colectadas. Se amplificaron 50 muestras mediante PCR región de control (D-loop) ADNmt. Las muestras mostraron bandas entre 850-1050 pb. Se descargaron 234 secuencias (500-1000 pb) del NCBI y del ACSTR. Se generaron 16 secuencias de las muestras colectadas. El grupo externo fue la tortuga *Gopherus berlandieri* (GenBank ID JQ231207). Para las distancias entre *C. m. agassizii*, se utilizaron datos de Colola, Mich., María Cleofás, Sin. y Rancho Nuevo, Tamp. La distancia interespecifica (p-Distance) es de 0.05. Las distancias entre tortugas negras y otros individuos fueron de 0.06-0.12. El grupo externo registro valores de 0.32-0.34. El resto de las tortugas marinas presenta diferenciación mayor a 0.1 principalmente con los individuos de RNT. Con el modelo Tamura Nei se encontro una distancia interespecifica de 0.05 e igualmente con los individuos de RNT. existe una diferencia significativa.

Para las secuencias de Genbank, la prueba p-Distancia y Tamura Nei, la distancia interespecifica fue de 0.03-0.130. El grupo externo registro valores de 0.253-0.366. Principalmente con individuos atlánticos y mediterráneos.

Las muestras de laboratorio mostraron contenido de G+C de 0.351. Los valores de diversidad genética mostraron Hd= 1,000, varianza de Hd=: 0.00049 y desviación estándar de la Hd=: 0.022. La diversidad de nucleótidos de Pi 0.09051, varianza de muestreo de Pi: 0.0001129 y desviación estándar de Pi: 0.01062. El número medio de diferencias de nucleótidos fue k= 55,30000.

Para las secuencias de GenBank, obtuvo contenido de G+C de 0.332. La diversidad genética mostro Hd= 0.993, la varianza de diversidad de haplotipos: 0,000 y la desviación estándar de la Hd=: 0.002. La diversidad de nucleótidos de Pi 0,03853, varianza de muestreo de Pi: 0,0000168, desviación estándar de Pi: 0.00410. El número medio de diferencias de nucleótidos fue k= 24.96585.

**Conclusiones y perspectivas.** El estudio de la historia de vida de la tortuga negra contribuye a la comprensión de la biología de *C. m. agassizii*, lo que permite definir los mecanismos (diferencias en la inversión reproductiva de las tortugas marinas en función de numerosos factores endógenos (genética, edad, tamaño corporal, estado de salud e historia reproductiva) y exógenos (distancias migratorias, latitud de las zonas de alimentación y calidad de las zonas de alimentación) que han configurado su estrategia de vida y permite prevenir el declive de las poblaciones y diseñar estrategias de conservación acordes con los cambios cada vez más rápidos e impredecibles en el desarrollo y los hábitats reproductivos de esta población.

**Agradecimientos.** A U.S. Fish and Wildlife Service, al Laboratorio de Ecología Marina y Costera de la UMSNH, a Beifi-IPN.

### Referencias.

- Duminil, & Fineschi, Silvia & Hampe, Arndt & Jordano, Pedro & Salvini, Daniela & Vendramin, & Petit, Rémy. 2007. Can Population Genetic Structure Be Predicted from Life-History Traits? *The American Naturalist*. 169. 662. 10.2307/4137044.
- Benabib, M. 2009. Los vertebrados y la historia de la vida. *Ciencias*, (007). Recuperado a partir de <https://www.revistas.unam.mx/index.php/cns/article/view/11310>
- Harvey, P. & Keymer, A. (1991). Comparing Life Histories Using Phylogenies. *Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences*. 332. 31-39. 10.1098/rstb.1991.0030

## EVALUACIÓN DE MICROALGAS COMO ADITIVOS EN ALIMENTOS BALANCEADOS EN DIFERENTES GENOTIPOS DE CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*

Brisia Lizbeth Puente Padilla, Hervey Rodríguez González\*.

Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Sinaloa, Departamento de Acuicultura, Guasave, Sinaloa, México. hrodriguezg@ipn.mx

Palabras clave: Microalgas, nutrición, camarón blanco, isotripsina, genotipos.

**Introducción.** Las microalgas son microorganismos que tienen la capacidad de realizar la fotosíntesis, las cuales, constituyen una fuente importante de biomoléculas con una amplia gama de aplicaciones que pueden aprovecharse para su uso comercial. De las microalgas, se pueden obtener proteínas, lípidos, vitaminas, pigmentos y otras moléculas que pueden ser empleadas para la salud, aditivos alimentarios, cosméticos, agricultura y para la producción de energía (1). Por otro lado, el éxito del cultivo de camarón se debe en gran medida, a la tolerancia en condiciones de cautiverio, el tiempo que se requiere para llegar a la talla promedio de presentación comercial. Se ha comprobado que la utilización de fuentes de proteína de origen vegetal induce un adecuado crecimiento en las especies acuícolas, sin embargo, algunas de las fuentes de estas fuentes alternativas de proteína presentan algunas desventajas como son una baja digestibilidad, deficiencias en ciertos aminoácidos esenciales como lisina, metionina, treonina y triptófano, pudiendo dar lugar a cambios significativos en la calidad nutricional del producto final (2). En este sentido, las microalgas tienen potencial para reducir la dependencia de las materias primas convencionales utilizadas en la elaboración de piensos para acuicultura (3).

**Planteamiento del problema.** El camarón blanco *L. vannamei* presenta tres isotripsinas que son expresadas en la glándula digestiva y forman tres fenotipos (CBA, CB y CA). En la búsqueda de reproductores con fenotipo CB y CA para realizar cruza dirigida para producir 100% de cada fenotipo, se encontró que los fenotipos CBA (80%) y CB (20%) se encuentran con mayor frecuencia. Por otro lado, se conoce que las microalgas contienen múltiples compuestos bioactivos que son de gran interés en la nutrición acuícola, es por esto que se plantea lo siguiente: ¿De qué forma afectará la inclusión de biomasa de microalgas a las dietas formuladas para juveniles de camarón blanco en los dos genotipos mayoritario y cuál será su efecto en crecimiento, digestibilidad y expresión génica?

**Justificación.** Durante las últimas décadas se ha incrementado el uso de biomasa de microalgas como fuente de distintos metabolitos para diversas industrias, como complemento en la dieta de moluscos, el tratamiento de aguas residuales, como biofertilizantes, en medicina por su capacidad antioxidante, antimicrobiana, antifúngica e inmunoreguladora, como biocombustibles, en la industria alimentaria como suplementos vitamínicos, además, se utilizan como pigmentos. Con la realización de este proyecto se presentará una propuesta para la producción de biomasa de microalgas con aplicación directa en la industria acuícola, particularmente, como aditivo en las dietas de camarón blanco *L. vannamei* para aumentar la tasa de supervivencia de los diferentes genotipos.

**Objetivo general.** Evaluar la inclusión de microalgas en dietas formuladas para juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en dos genotipos (CBA Y CB), y su efecto en crecimiento, digestibilidad y expresión génica.

**Objetivos particulares.** 1-Determinar la composición proximal y la actividad antioxidante de microalgas experimentales; 2-Evaluar el efecto de las dietas experimentales sobre el crecimiento y supervivencia de los diferentes genotipos de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*; 3-Determinar la digestibilidad y actividad enzimática de los diferentes genotipos de camarón blanco *L. vannamei* alimentados con las dietas experimentales; 4-Identificar la actividad y expresión de genes en relación a la capacidad antioxidantes, apetito y crecimiento en diferentes genotipos de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* bajo condiciones de estrés.

**Estrategia metodológica.** Se llevará a cabo la producción de biomasa utilizando fotobiorreactores tubulares con controladores de pH (figura 1). Posteriormente se realizará el análisis proximal a la



Figura 1. Configuración de los fotobiorreactores para la producción de biomasa.

biomasa de las microalgas, con el fin de conocer el contenido de humedad, proteína cruda, lípidos, fibra cruda, extracto libre de nitrógeno y cenizas. La metodología para los análisis se llevará a cabo de acuerdo con procedimientos estándares de la AOAC. Los ácidos grasos serán cuantificados con el método de transesterificación directa. Serán identificados comparando los tiempos de retención con sus respectivos estándares. El contenido de aminoácidos será calculado por medio de cromatografía. El contenido de antioxidantes se llevará a cabo Se realizará por método FRAP y por el método de DPPH Se cuantificarán flavonoides y fenoles totales empleando un método colorimétrico.

Las dietas experimentales se prepararán con la biomasa microalgal de las cepas seleccionadas. Se añadirán como aditivo en los alimentos a diferentes concentraciones (0.05% y 0.1%), y posteriormente los organismos serán sometidos a un factor de estrés externo para observar la respuesta del sistema inmune y el efecto de la adición de las microalgas al alimento.

El porcentaje de digestibilidad aparente de materia seca y la digestibilidad aparente de proteína de las dietas se calcularán utilizando las ecuaciones de Wu et al. (4). Se evaluará la digestibilidad aparente de la materia seca del ingrediente y la digestibilidad aparente del ingrediente y se medirá la 8actividad de tripsina se determinará empleando el sustrato sintético N  $\alpha$ -benzoyl-DL-arginina-p-nitroanilida. Para la expresión de genes se llevará a cabo la metodología descrita en la figura 2. La expresión relativa del ARNm de los camarones en los tratamientos con aditivo se determinará por el método  $\Delta\Delta Ct$ . Este algoritmo permite el uso de varios genes de referencia logrando una expresión génica normalizada más precisa, según la ecuación siguiente:

$$R = E_{goi} \Delta Ct_{goi} \div \prod E_{ref} \Delta Ct_{ref} \cdot ref0f$$



Figura 2. Diagrama básico de flujo para la expresión de genes.

**Resultados esperados.** Con la realización de este proyecto se presentará una propuesta para la producción de biomasa de microalgas con aplicación directa en la industria acuícola, particularmente, como aditivo en las dietas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* y se espera aumentar la tasa de supervivencia de los diferentes genotipos de *L. vannamei* en su fase de juveniles.

### Referencias.

- Aragão, C; Gonçalves, A; Costas, B; Azeredo, R; Xavier, M; Engrola, S. 2022. Alternative proteins for fish diets: implications beyond growth. *Animals*. 12(9): 1211.
- Camacho, F; Macedo, A; Malcata, F. 2019. Potential industrial applications and commercialization of microalgae in the functional food and feed industries: A short review. *Marine drugs*. 17(6): 312.
- de Jesus Raposo, M; de Moraes, R; S. de Moraes. 2013. Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. *Life sciences*. 93(15): 479-486.
- Wu, X. Y; Liu, Y. J; Tian, L. X; Mai, K. S; Yang, H. J. 2006. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for

yellowfin seabream, *Sparus latus*. *Journal of the world aquaculture society*. 37(3): 237-245.

## PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE CAMARÓN CON GENOTIPOS ENZIMÁTICOS MEJORADOS.

MC. Isabel Martínez Rocha, Dr. Juan Carlos Sainz Hernández\*.

CIIDIR IPN Unidad Sinaloa, departamento de Acuicultura, Laboratorio de sistemas de producción. [sainz@ipn.mx](mailto:sainz@ipn.mx) 6871178733

Palabras clave: *Tripsina, Penaeus, Genotipo, Acuicultura, Enzima*.

**Introducción.** El camarón *Penaeus vannamei* presenta tres isotripsinas (tripsina3.4.21.4.) que son expresadas en la glándula digestiva. Ellas son generadas por dos genes; la isotripsina monomórfica CC que es traducida del gen  $\beta$ , la expresión de este gen esta fijo y se manifiesta en los tres genotipos. El segundo gen, el gen  $\alpha$  que puede generar una isotripsina heteromorfa BA o monomorfo BB o AA. La expresión de estos genes produce los genotipos de la tripsina digestiva CBA, CB y CA (Aguñaga-Cruz *et al.*, 2019). Aguiñaga-Cruz y colaboradores detectaron que, en la fase desde el desove hasta los estanques de siembra, los camarones *P. vannamei* con tripsina genotipo CA mueren en más del 80%. El genotipo CBA fue el más abundante, seguido del genotipo CB, pero el genotipo CA disminuyó su frecuencia y no se encontró en camarones de más de 5 g de peso corporal. La ausencia del genotipo CA en la población natural es similar a la de la acuicultura.

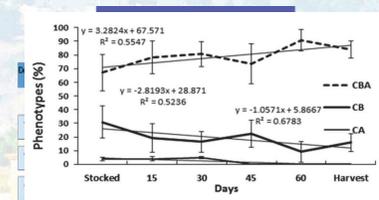


Figura 1. Frecuencia de fenotipos de tripsina durante 75 días de cultivo.

**Planteamiento del problema.** El proceso de la acuicultura no ejerce presión sobre el genotipo CA; dicha mortalidad está asociada con otro fenómeno aún no comprendido, se sabe que la mortalidad ocurre cuando los camarones heredan un alelo monomórfico codominante de tripsina llamada A, y la ausencia del alelo B. Las diferencias en los genotipos entre los individuos pueden producir diferentes desempeños fisiológicos, comprometiendo la eficiencia de la digestión de las proteínas y absorción de los nutrientes necesarios para el desarrollo óptimo de los organismos (Aguñaga-Cruz *et al.*, 2020).

**Justificación.** Buscamos la mejora productiva de camarón evitando la pérdida del 25 % de los organismos con fenotipo CA, se obtiene buenos rendimientos con organismos CB, pero podemos obtener mejores con organismos 100% CBA, para lo cual se necesita una cruz CA y CB.

Es necesario evaluar la estructura terciaria de cada isoforma, para determinar las diferencias estructurales entre isoformas y evidenciar porque los camarones con la isoforma A monomórfica mueren a temprana edad.

Las mejoras que se pretenden con este proyecto están relacionadas con una mejor hidrólisis de proteína y disponibilidad para el crecimiento, salud y reproducción.

**Objetivo general.** Descripción de características de camarones con fenotipo de tripsina digestiva CA.

**Objetivos particulares.** 1. Determinar si los organismos CA sobreviven con adición de isoenzima B recombinante. 2. Analizar la estructura terciaria para determinar sus diferencias funcionales.

**Estrategia metodológica.** Para el cumplimiento de este trabajo se producirá las líneas de camarón con los diferentes genotipos, incluyendo el genotipo CA. Se describirán las características estructurales de las tres isoformas, para compararlas y evidenciar la baja eficiencia catalítica de la isoforma A. posteriormente se realizará la clonación de las tres isoformas (sistema bacteriano y levadura), para continuar con la producción en diferentes sistemas de fermentación. Los bioprocesos serán optimizados y escalados en biorreactores de 3L. Se realizará los experimentos para evaluar el desempeño en cultivo a través de la adición de las isoenzimas en los alimentos. Con apoyo del Departamento de ciencias Químico-Biológicas, UNISON, se llevará a cabo el proceso de cristalización de las tres isoformas de la tripsina digestiva (Sainz Hernandez *et al.*, 2005; Böttcher & Bornscheuer, 2010; Russo *et al.*, 2013; Aguiñaga-Cruz *et al.*, 2017; Aguiñaga-Cruz *et al.*, 2020).

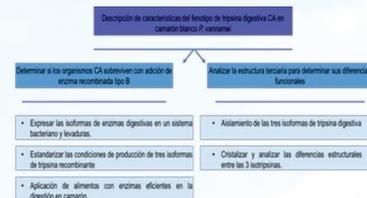


Figura 2. Esquema de metas para cumplimiento de la metodología.

**Resultados esperados.** Con nuestro trabajo esperamos que el alimento adicionado con la enzima recombinante de la isoforma B genera 15% de organismos con fenotipo CA a los 5 gr de crecimiento.

Así también como resultado de la cristalización de las isoformas logremos observar que las secuencias de las tripsinas C, B y A presentan una estructura terciaria diferente, donde la isoforma A evidencia la mortalidad de los organismos CA.

**Referencias.** Las referencias deberán ser ordenadas alfabéticamente y numeradas. Sólo mencione a los trabajos más relevantes, procurando no citar a más de cuatro. Incluya a todos los autores en la referencia y use alguno de los formatos siguientes, de acuerdo a la fuente

1. Aguiñaga Cruz, J., Sainz Hernandez, J., Gonzalez Prieto, J., Vargas Albores, F., Sandoval Castro, E., & Rubio Gastelum, D. (2017). Population Structure of Digestive Trypsin Phenotypes in Hatcheries for Pacific White Shrimp and Their Frequencies during Growth in Commercial Culture. *North American Journal of Aquaculture*, 79:3, 261-266.
2. Aguiñaga Cruz, J., Sandoval Castro, E., García Rodríguez, L., Fierro Coronado, A., Apun Molina, J., & Sainz Hernandez, J. (2020). A new disruption observed in the white shrimp *Penaeus vannamei* caused by the absence of a trypsin allele. *Aquaculture*, 523: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735191>.
3. Böttcher, D., & Bornscheuer, U. (2010). Protein engineering of microbial enzymes. *Current Opinion in Microbiology*, 13, 274–282.
4. Sainz Hernandez, J., Garcia Carreño, J., Cordova Murueta, J., & Cruz Hernandez, P. (2005). Whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931) isotrypsins: their genotype and modulation. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology*, 326:105-113.