

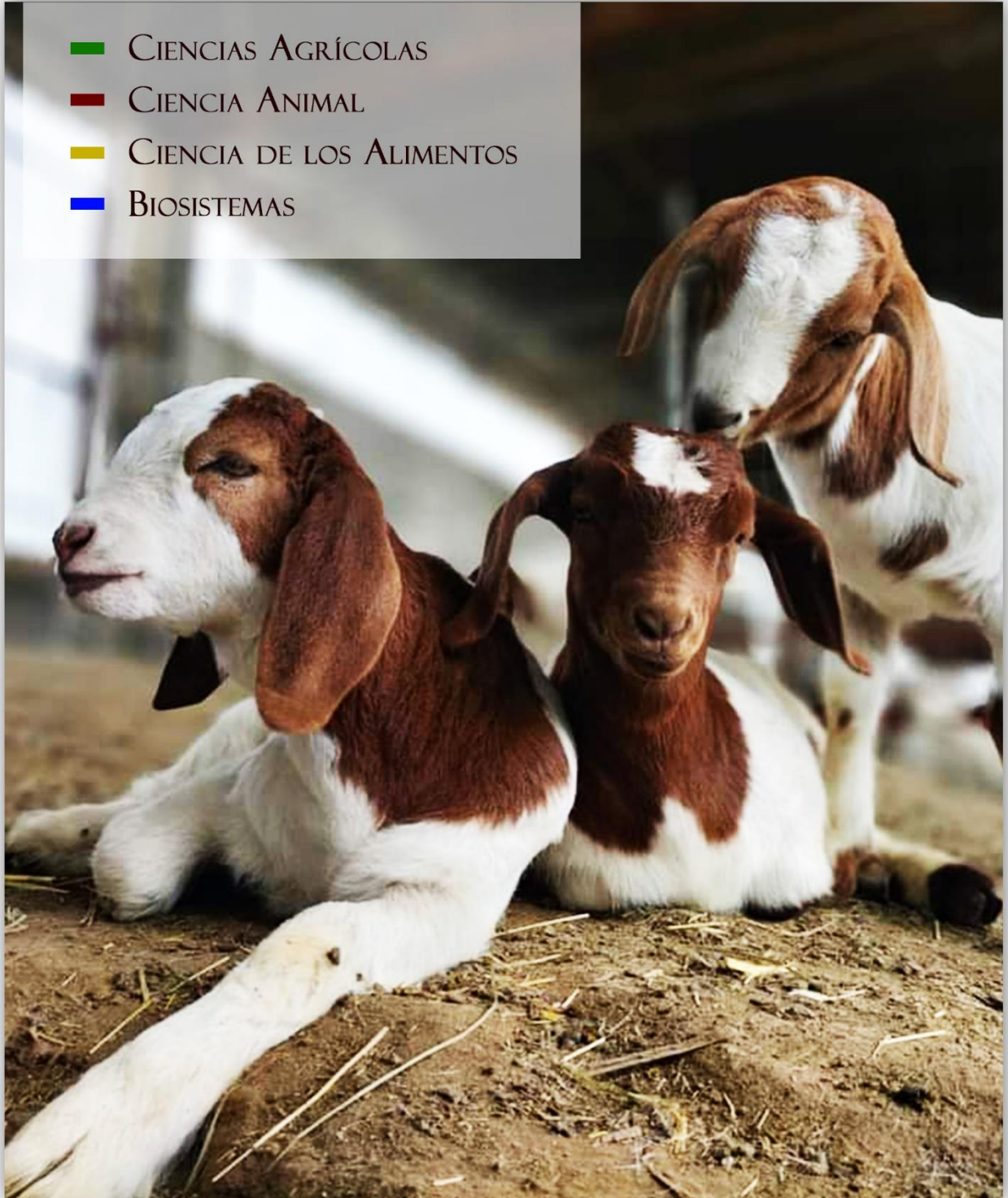
SCIENTIA

ISSN: en trámite

AGRICOLIS VITA

Revista de Investigación Científica de la Facultad de Agronomía - UANL

-  CIENCIAS AGRÍCOLAS
-  CIENCIA ANIMAL
-  CIENCIA DE LOS ALIMENTOS
-  BIOSISTEMAS



Volumen 1
Número 2
Mayo - Agosto
2024



Una publicación de la Universidad Autónoma de Nuevo León

Dr. Santos Guzmán López

Rector

MC. Carlos Alberto Hernández Martínez

Director de la Facultad de Agronomía

MC. Jesús Andrés Pedroza Flores

Subdirector Académico

Dra. Juanita Guadalupe Gutiérrez Soto

Subdirectora de Posgrado e Investigación

Dr. Segio Eduardo Bernal García

Subdirector Administrativo

M.C. Nora Estela García Treviño

Subdirectora de Vinculación y Servicio Social

M.C. Eduardo García Zambrabo

Subdirector de Planeación y Mejora Continua

Editora en jefe: Dra. Guadalupe Gutiérrez Soto.

Editor de contenido temático:

Ciencias Agrícolas: Dr. Iosvany López Sandin

Ciencia Animal: Dr. Hugo Bernal Barragán / Dr. Uziel Castillo Velázquez

Ciencias de los Alimentos: Dra. Nohemí Del Carmen Reyes Vázquez

Biosistemas: Dr. Celestino García Gómez / Dr. Juan Francisco Villareal Chiu

Diseño: M.A. Blanca Idolisa Contreras Cantú

Scientia Agricolis Vita, Año 1, Número 2, mayo-agosto 2024. Fecha de publicación: 31 de mayo de 2024. Revista tetramestral, editada y publicada por la Universidad Autónoma de Nuevo León, a través de la Facultad de Agronomía. Domicilio de la publicación: Facultad de Agronomía, calle Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda "El Canada", General Escobedo, Nuevo León, México, C.P. 66050. Teléfono: + 52 81 8329 4000. Ext:3515.

Las opiniones y contenidos expresados en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores.

Prohibida su reproducción total o parcial, en cualquier forma o medio, del contenido editorial de este número.

Publicado en México

Todos los derechos reservados

revista.agricolis@uanl.mx

PRESENTACIÓN

Es un honor presentar el segundo número de la Revista Científica *Scientia Agricolis Vita*, una publicación de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). Esta revista se ha consolidado como un espacio académico dedicado a la difusión de investigaciones innovadoras y desarrollos significativos en el ámbito de las ciencias agronómicas.

En este segundo número, reafirmamos nuestro compromiso con la excelencia científica y el avance del conocimiento en nuestra disciplina. Los artículos que componen esta edición abarcan una amplia gama de temas, desde estudios sobre la mejora genética de cultivos y el manejo sostenible de recursos naturales, hasta investigaciones sobre nuevas tecnologías agrícolas y su impacto en la productividad y la sostenibilidad.

Cada uno de estos trabajos ha sido seleccionado por su rigor metodológico y su contribución significativa al campo de la agronomía. Agradecemos profundamente a los autores por compartir sus hallazgos y a los revisores por su meticuloso trabajo en asegurar la calidad y relevancia de los contenidos. También extendemos nuestro agradecimiento a la comunidad académica y profesional por su continuo apoyo y confianza en nuestra revista.

Esperamos que los artículos presentados en este número no solo aporten conocimiento, sino que también inspiren nuevas investigaciones y prácticas que promuevan el desarrollo sostenible de la agricultura. Estamos convencidos de que la colaboración y el intercambio de ideas son fundamentales para enfrentar los desafíos actuales y futuros en el ámbito agronómico.

Dra. Guadalupe Gutiérrez Soto
Editora en Jefe

CONTENIDO

Estrategias de muestreo para el inventario de combustibles forestales en un bosque de <i>Pinus oocarpa</i> Schiede ex Schltdl.	
Magali Reyes-Mateo ¹ , Romeo de Jesús Barrios-Calderón ^{1*} , Raisa Yarina Escalona-Domenech ¹ , Emir Falcón Oco-nor ² , Inna Yolanda Trigueros-Vázquez ¹ y Magdiel Gabriel-Hernández ^{1*}	1
Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la obtención de enzimas termoestables degradadoras de pared celular vegetal utilizando un co-cultivo de basidiomicetos	
Iosvany López-Sandin ¹ , Guadalupe Gutiérrez-Soto ^{1*} , Joel Horacio Elizondo Luevano ¹ , Roberto Parra Saldívar ¹ , Monserrat Franco Flores ¹ , Diana Castillo Martínez ¹ , Denisse Melissa Garza Hernandez ²	12
Explorando el potencial antimicrobiano de plantas medicinales contra la caries dental	
Marcela A. Gloria-Garza ¹ , Ramiro Quintanilla-Licea ² , Gustavo Raúl Reyna-Martínez ³ , Joel H. Elizondo-Luevano ^{4*}	22
Edición de Genes y CRISPR-Cas: Aplicaciones, Avances y Desafíos	
Joel Horacio Elizondo-Luevano ^{1,2,*} , Lizeth Aniram García-Sotelo ² , Iván Eliot Cárdenas-Paredes ² , Vanessa de Dios-Romero ² , Carolina Villanueva-Terán ² , y Miroslava Kačániová ^{3,4,*}	34
Cannabinoides y su nanoencapsulamiento para mejorar sus propiedades terapéuticas en padecimientos intestinales	
K. Antonio Cárdenas-Noriega ¹ , A. Soto-Dominguez ² , LE. Rodríguez-Tovar ¹ , GA. Guillen-Melendez ² , Hernández Vidal G ^{1*†} , Uziel Castillo-Velázquez ^{1*†}	55
Información adicional.....	68

Artículo

Estrategias de muestreo para el inventario de combustibles forestales en un bosque de *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl.

Magali Reyes-Mateo¹, Romeo de Jesús Barrios-Calderón^{1*}, Raisa Yarina Escalona-Domenech¹, Emir Falcón Oconor², Imna Yolanda Trigueros-Vázquez¹ y Magdiel Gabriel-Hernández¹

¹ Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Chiapas, Entronque carretera costera y Huehuetán Pueblo, C.P. 30660, Huehuetán, Chiapas, México; maguimateo27@gmail.com (M.R.-M.); romeo.barrios@unach.mx (R.J.B.-C.); raisayed2015@gmail.com (R.Y.E.-D); imna.trigueros@unach.mx (I.Y.T.-V.); magdiel.gabriel@unach.mx (M.G.-H.).

² Facultad Agroforestal, Universidad de Guantánamo, Av. Che Guevara km 1.5, carretera Jamaica, C. P. 95100, Guantánamo, Cuba. efalconconor@gmail.com

* Correspondencia: romeo.barrios@unach.mx (R.J.B.-C.)

Resumen: Introducción: El estudio de los combustibles forestales permite definir estrategias precisas de manejo del fuego en zonas forestales. Sin embargo, existe incertidumbre acerca del nivel de precisión de los inventarios de combustibles y del número suficiente de líneas de muestreo al aplicar la técnica de intersecciones planares. **Objetivo:** Determinar la carga de combustibles forestales en un bosque de *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl del municipio de Motozintla de Mendoza, Chiapas, aplicando diferentes esquemas de muestreo (número de líneas) que permita mayor precisión y rigor estadístico. **Metodología:** Se aplicó la técnica de intersecciones planares para determinar las cargas de combustibles leñosos y hojarasca, estableciendo de 5 a 40 líneas de muestreo. **Resultados:** El mejor esquema de muestreo fue el de 40 líneas ha⁻¹ para la carga total de combustibles forestales leñosos y de hojarasca. De los cuatro sitios evaluados, el sitio 3 mostró mayor acumulación de combustibles leñosos (56.44 ± 5.01 t ha⁻¹) y el sitio 1 (19.71 ± 2.47 t ha⁻¹) para combustibles de hojarasca. **Conclusiones:** Es importante mantener el esquema mínimo de 40 líneas ha⁻¹, dado a que, a medida que se incrementa el número de transectos lineales, se reduce la desviación estándar y el error de muestreo.

Palabras clave: carga de combustible; intersecciones planares; esquemas de muestreo; incendios forestales.

Sampling strategies for forest fuel inventory in a *Pinus oocarpa* forest Schiede ex Schltdl.

Abstract: Introduction: The forest fuels study allows us to define precise fire management strategies in forest areas. However, there is uncertainty about the level of precision of fuel inventories and the sufficient number of test lines to apply the planar intersection technique. **Objective:** Determine the forest fuel load in a forest of *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl of the municipality of Motozintla of Mendoza, Chiapas, applying different sampling schemes (number of lines) that allow greater precision and statistical rigor. **Methodology:** The planar intersection technique was applied to determine the loads of woody and leaf litter fuels, establishing 5 to 40 test lines. **Results:** The best monitoring scheme was 40 lines ha⁻¹ for the total load of woody and leaf litter fuels. Of the four sites evaluated, site 3 showed the highest accumulation of woody fuels (56.44 ± 5.01 t ha⁻¹) and site 1 (19.71 ± 2.47 t ha⁻¹) for leaf litter fuels. **Conclusions:** It is important to maintain the minimum scheme of 40 lines ha⁻¹, given that, as the number of linear transects increases, the standard deviation and measurement error are reduced.

Keywords: fuel load; planar intersections; sampling schemes; forest fires.

1. Introducción

Uno de los elementos esenciales para que ocurra un incendio es el combustible forestal, el cual se define como el material vegetal o la biomasa producida por los árboles (Walker *et al.*, 2020) que puede arder, al ser expuesto a una fuente de calor (Nájera, 2015). Esto es, la biomasa de plantas vivas y muertas, además de otra materia orgánica en el bosque, que puede encenderse y alimentar el proceso de combustión (Barrios-Calderón *et al.*, 2018). Los combustibles acumulados en las áreas forestales son el factor fundamental para la propagación de un incendio, siendo el único componente del triángulo del fuego (exceptuando el calor y el oxígeno) que puede ser controlado e incluso manejado por el hombre (Rodríguez-Trejo *et al.*, 2020).

Los combustibles forestales son elementos críticos en muchas de las actividades de planificación y gestión de incendios forestales (Keane y Wagtenonk, 2001). Estos permiten evaluar diversos factores como el riesgo, peligro, intensidad y frecuencia, vinculados a la presencia de incendios forestales en un determinado ecosistema (Flores-Garnica *et al.*, 2018). La necesidad de aplicar medidas preventivas y manejar el material combustible acumulado en cualquier tipo de ecosistema conduce a la realización de inventarios de combustibles forestales (Madrigal *et al.*, 2017). La caracterización y cuantificación de los combustibles forestales es un aspecto de fundamental importancia para la predicción del comportamiento del fuego, la evaluación de sus efectos ecológicos y la toma de decisiones de manejo (Flores-Garnica *et al.*, 2018; Quiroga-Palacio y Santiago Villa, 2019; Rodríguez *et al.*, 2024), sin embargo, existe incertidumbre sobre la precisión de las técnicas de estimación del material combustible en cualquier ecosistema forestal.

Los estudios relacionados con los incendios forestales y las actividades operativas actuales tienen un desafío común en la cuantificación de los combustibles, ya que la carga de combustible varía en todo el ecosistema (Chen *et al.*, 2017). Algunos inventarios de combustibles utilizan un número limitado de líneas de intersección ocasionando sesgos o tendencias lejanas a la realidad, mientras que en otros inventarios se puede sobreestimar la información cuando el número de línea se excede a lo necesario, incrementando con ello los esfuerzos de campo y desgastando recursos que quizá no sean necesarios. Es por ello que el presente trabajo intenta definir el número de sitios o líneas de intersección planar que sea representativo para muestrear la superficie de una hectárea en cuatro zonas de bosque de *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl. del municipio de Motozintla de Mendoza, con el menor porcentaje de error posible y que indique con mayor precisión la cantidad promedio de combustibles presentes en esa porción de terreno. Con esto, la contribución al estado del conocimiento está encaminada a sentar las bases técnicas y metodológicas sobre el número adecuado de líneas de intersección planar que se debe aplicar en futuros inventarios de combustibles, tomando en cuenta que se tendrá un menor porcentaje de error posible. De esta manera, el objetivo del presente estudio es determinar la carga de combustibles forestales en cuatro bosques de *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl. del municipio de Motozintla de Mendoza, Chiapas, aplicando diferentes esquemas de muestreo para definir el número de líneas que permita mayor precisión y rigor estadístico, al momento de ubicar las zonas potenciales a incendios forestales. Para ello, se plantean las hipótesis: i) no se presentan diferencias en cuanto al número de líneas adecuado para la determinación de la carga de combustibles leñosos y hojarasca y ii) la carga de combustibles forestales y hojarasca no muestran diferencias significativas en los cuatro sitios evaluados.

2. Materiales y Métodos

Área de estudio.

El estudio se realizó en el municipio de Motozintla de Mendoza (15° 22. N y 92° 15. W), ubicado a una altitud de 1300 msnm en el sureste del estado de Chiapas dentro de la región Sierra Madre de Chiapas, México. Los climas predominantes en Motozintla de Mendoza son los climas cálidos húmedos con abundantes lluvias en verano (Am), cálidos subhúmedos con lluvias en verano A(wl) y templados-húmedos con abundantes lluvias en verano C(m). El rango de precipitación media anual es de 1000 a 4500 mm, mientras que la temperatura que prevalece es de 12 a 26 °C (CONAGUA, 2011). Se seleccionaron para el presente estudio las zonas de pinares localizadas al noreste del polígono del municipio, específicamente un bosque de *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl.

Diseño de muestreo.

Se establecieron cuatro sitios del bosque de *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl. con características homogéneas (rodales) distribuidas de norte a sur: sitio 1 (15°21'51" N, 92°16'38", 1493 msnm) sitio 2 (15°21'49" N, 92°16'37", 1530 msnm), sitio 3 (15°21'47" N, 92°19'35", 1572 msnm) y sitio 4 (15°21'49" N, 92°19'32", 1608 msnm). En cada sitio, se delimitó una superficie de 1 ha⁻¹ orientada con respecto al norte geográfico, permitiendo con ello mayores facilidades en las actividades de medición y ubicación de los transectos lineales dentro de cada parcela experimental. Utilizando un muestreo sistemático, en cada sitio se ubicaron un total de ocho transectos estableciendo cinco líneas de 20 m por cada transecto, con una separación entre líneas de 10 m siguiendo un rumbo franco al norte. En total se obtuvieron 40 líneas en cada sitio, haciendo un total de 160 líneas en toda el área muestreada, estas cubren perfectamente un área de estudio total de 40,000 m², que corresponde a 10,000 m² para cada sitio. Los criterios para delimitar el área de estudio consisten en mantener todos los atributos de densidad, mezcla de especies, altura y diámetro dominantes que el resto del rodal.

Método

Para estimar la carga de combustibles forestales se utilizó la técnica de intersecciones planares, descrita por Brown (1974) y adaptada por Sánchez y Zerecero (1983). De acuerdo con la técnica de intersecciones planares, la medición de los combustibles leñosos representa el corte virtual de un plano vertical sobre los materiales, representado por la línea de muestreo y que en el terreno se delimitó extendiendo una cuerda de 20 m seccionada a 1, 4, 10 y 20 m. Las partículas leñosas que fueran intersecadas en la línea cuya clase diamétrica son de 0 a 0.6 cm (combustibles de 1 h) y de 0.6 a 2.5 cm (combustibles de 10 h) se registraron en el primer metro de la línea, las partículas con clase diamétrica de 2.5 a 7.5 cm (combustibles de 100 h) se midieron en los primeros cuatro metros de la línea y finalmente en el total de la línea de intersección planar se midieron las partículas leñosas con diámetros mayores a 7.5 cm que corresponden a los combustibles de 1000 h (Figura 1).

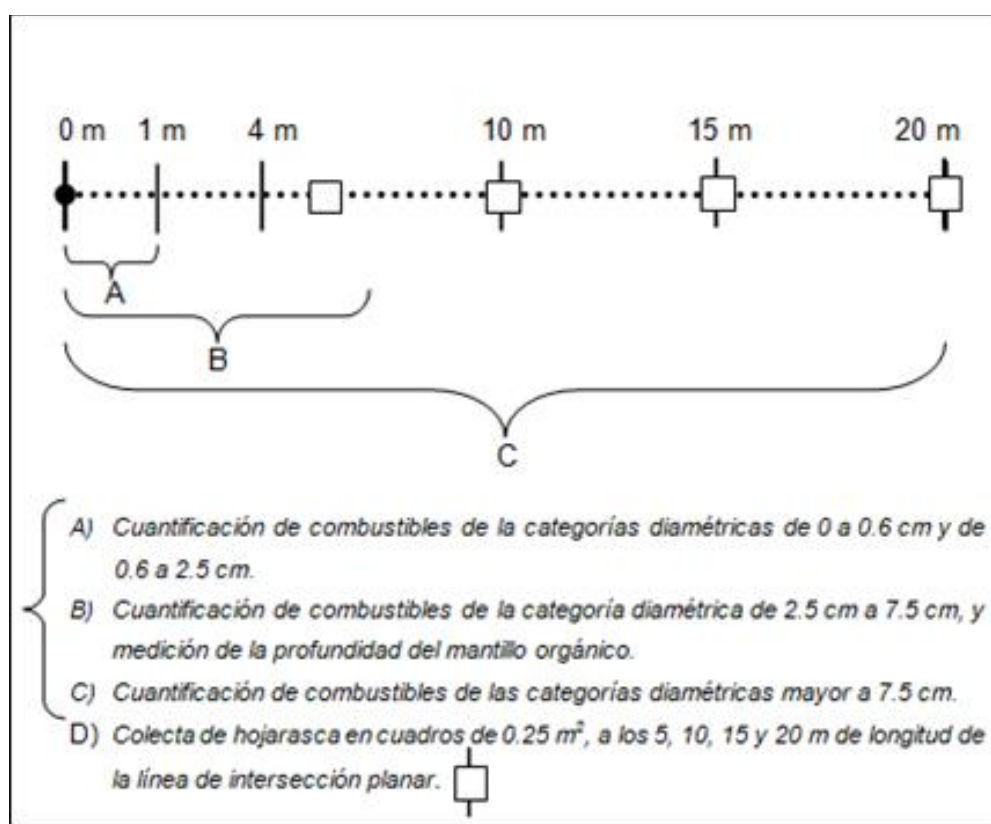


Figura 1. División de las líneas de muestreo establecidas en cada uno de los cuatro sitios de estudio para la caracterización y cuantificación de combustibles forestales.

Variables medidas

a) Caracterización del arbolado. En cada sitio establecido, se midieron las variables dasométricas: altura, diámetro normal, densidad de arbolado, área basal y otros índices reportados en otro estudio.

b) Combustibles leñosos. Los combustibles finos con diámetro menor a 2.5 cm (0 a 0.6 cm y 0.6 a 2.5 cm) y medianos (de 2.5 a 7.5 cm) se contabilizaron utilizando un calibrador hecho de cartón que funciona como un vernier con las dimensiones estándar de cada categoría de combustibles finos y medianos. Por su parte, los combustibles de con diámetro >7.5 cm (firme y podrido) se consideraron a lo largo de los 15 metros, es decir en toda la línea de muestreo. La cuantificación de esta categoría de combustibles se realizó midiendo el diámetro de la troza interceptada por la línea de muestreo, mediante el uso del flexómetro. El registro se realizó midiendo ramas o trozas con diámetros mayores a 7.5

cm que no presentaran pudriciones (firme), separando de las que si presentaran algún grado de putrefacción. Los diámetros obtenidos se elevaron al cuadrado y se realizó la sumatoria parcial de diámetros por línea de muestreo, posteriormente, se realizó la sumatoria total para cada sitio de muestreo.

La cuantificación total de combustibles se realizó mediante la suma de los promedios de cada categoría diamétrica de combustibles. Para poder efectuar los cálculos de cada categoría diamétrica o tamaño de clase, se emplearon las fórmulas descritas por Sánchez y Zerecero (1983), tal y como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Modelos matemáticos empleados para el cálculo de la carga de combustibles forestales (Brown, 1974).

Clase de combustible (diámetro en cm)	Fórmula
0 – 0.6	$P = (0.484 * f * c) / (N * l)$
0.6 – 2.5	$P = (3.369 * f * c) / (N * l)$
2.5 – 7.5	$P = (36.808 * f * c) / (N * l)$
> 7.5 (sin pudrición)	$P = (1.46 * d^2 * c) / (N * l)$
> 7.5 (con pudrición)	$P = (1.21 * d^2 * c) / (N * l)$

Donde: P = Peso de los combustibles, expresado en toneladas/hectáreas (t/ha); f = Frecuencia o número de intersecciones; c = Factor de corrección de pendiente del terreno; d2 = Suma de los cuadrados de los diámetros de las ramas y trozas > a 7.5; N = Número de líneas; l = Longitud total de la línea de muestreo o suma de las longitudes de las líneas dado en pies lineales. (1 m = 3.28 pies) (2 m = 6.56 pies) (4 m = 13.12 pies) (7 m = 22.96 pies)

Dado a que la topografía de los sitios de estudio es irregular, se aplicó un factor de corrección de la pendiente, refiriendo esta a una base horizontal. Para ello se utilizó la siguiente fórmula:

$$C = \frac{1 + (\% \text{ pendiente})^2}{100}$$

b) Combustibles de hojarasca. La cuantificación de hojarasca superficial y en fermentación incluye todo el material acumulado por caída natural de los diferentes estratos vegetales del área estudiada, principalmente está conformada por acículas de pino de las especies más representativas de la zona. En los cuadros de 0.25 m² se evaluó la profundidad del mantillo con el uso de un flexómetro, midiendo el perfil de las capas orgánicas, desde la superficie hasta el límite con el suelo mineral. Esta medición se efectuó a los 5, 10, 15 y 20 m de longitud de cada línea de muestreo. De todas las líneas de muestreo ubicadas en cada sitio, se obtuvieron las profundidades promedio. Para la cuantificación de mantillo orgánico, se tomó en cuenta el valor de la profundidad de hojarasca y humus en todas las líneas de muestreo, haciendo una correlación entre profundidad promedio y peso seco de la hojarasca para cada sitio establecido. La hojarasca se midió en función a su peso en t ha⁻¹. Las colectas realizadas en campo con bolsas de polietileno fueron llevadas a laboratorio para someterlas a secado con una estufa a temperatura de 105°C durante 24 horas. El promedio del peso seco de la hojarasca se multiplica por el peso total del material colectado en el metro cuadrado. Los datos obtenidos se extrapolaron para referirlos a una hectárea y así obtener la cantidad de hojarasca existente en t ha⁻¹.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos al utilizar los esquemas de muestreo de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 líneas de muestreo por hectárea fueron procesados para calcular la media y desviación estándar por cada esquema, adicionalmente se estimó el error de muestreo considerando una confiabilidad del 95%. La selección de los mejores esquemas de muestreo se basó en los que menores desviaciones estándar y error de muestreo exhibieron. Posteriormente,

se realizó el ANOVA y comparación de medias por Tukey-Kramer para determinar diferencias significativas entre los sitios evaluados para cada una de las variables definidas.

3. Resultados

Caracterización arbórea

En el sitio 1 se encontraron 302 árboles de los cuales 207 correspondieron a *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl. y los 95 árboles restantes fueron de *Pinus maximinoi* H. E. Moore. El diámetro promedio del rodal corresponde a 34 cm, una altura de 16 m y un área basal de 18.9 m² correspondiendo un aporte promedio de combustibles forestales por árbol de 0.172 toneladas. En el sitio 2 se encontraron 249 árboles, de los cuales 134 árboles son de *Pinus oocarpa* y 115 árboles

restantes de *Pinus maximinoi*. El diámetro promedio del rodal fue de 31 cm, con altura media de 19.5 m y un área basal de 17.3 m², teniendo que cada árbol aporta un promedio de 0.193 toneladas de biomasa. Para el caso del sitio 3, se encontraron 274 árboles de los cuales 260 correspondieron a *Pinus oocarpa* y los 14 árboles restantes fueron de *Pinus* sp. y *Quercus* sp. El diámetro promedio del rodal corresponde a 36.5 cm, una altura de 19.6 m y un área basal de 21.5 m². El aporte promedio de combustibles forestales por árbol en este sitio fue de 0.205 toneladas. Finalmente, en el sitio 4 el número total de árboles encontrados fue de 315, de los cuales 240 árboles fueron de *Pinus oocarpa*, 32 árboles de *Pinus maximinoi* y 43 árboles de *Pinus* sp. El diámetro promedio del rodal corresponde a 24 cm, con altura promedio de 14.6 m y un área basal de 13.9 m², con ello el aporte de combustibles forestales de cada árbol corresponde a 0.130 toneladas.

Combustibles forestales leñosos

La carga total de combustibles forestales leñosos mostró el valor mínimo de 41.22 t ha⁻¹ de combustibles correspondiente al sitio 2, mientras que el valor máximo encontrado pertenece al sitio 3 fue de 56.44 t ha⁻¹, utilizando de 5 a 40 líneas de muestreo por hectárea dentro de los cuatro sitios de estudio (Cuadro 2).

Cuadro 2. Esquemas de muestreo para estimar la carga total de combustibles forestales en los cuatro sitios evaluados.

No. Líneas ha ⁻¹	Carga media (t ha ⁻¹)	D.E (t ha ⁻¹)	Error de muestreo (%)
Sitio 1			
5	51.86	4.2	187
10	53.06	3.52	111
15	52.96	3.33	86
20	53.34	3.35	75
25	53.02	3.13	62
30	52.43	3.2	58
35	52.18	3.08	52
40	52.11	2.94	46
Sitio 2			
5	47.62	1.16	51
10	48.21	1.48	46
15	42.99	2.49	56
20	42.45	2.7	54
25	42.02	3.01	55
30	41.55	3.03	51
35	41.22	3.07	48
40	46.73	2.24	46
Sitio 3			
5	52.95	4.47	169
10	52.27	5.86	155
15	54.03	5.88	125
20	55.07	5.91	102
25	55.55	5.54	80
30	55.74	5.22	65
35	56.3	5.07	46
40	56.44	5	39
Sitio 4			
5	45.12	1.82	81
10	44.57	2.32	73
15	43.57	2.53	65
20	42.99	2.49	56
25	42.45	2.7	54

30	42.02	3.01	55
35	41.55	3.03	51
40	41.22	3.07	48

Para el caso de los sitios 1, 3 y 4, se observó que el menor error de muestreo y desviación estándar se obtuvo al utilizar el muestreo con las 40 líneas por hectárea. En estas 40 líneas el sitio 1 muestra una media de 52.11 t ha⁻¹ de combustibles forestales con una desviación estándar de 2.94 y un error de muestreo del 46 %, el sitio 4 presenta una media de 41.22 t ha⁻¹ de combustibles forestales, desviación estándar de 3.07 con un error de muestreo de 48% y el sitio 3 presenta una media de 56.44 t ha⁻¹ con desviación estándar de 5 y error de muestreo correspondiente al 39% (Cuadro 2). El sitio 2 presenta un menor error de muestreo y desviación estándar con el esquema de muestreo de 10 líneas, obteniendo un promedio de 48.21 t ha⁻¹ de combustibles forestales, con una desviación estándar correspondiente a 1.48 y un error de muestreo del 46% (semejante al del sitio 1).

El análisis de varianza muestra que existen diferencias significativas en la carga promedio de combustibles totales para las 40 líneas establecidas dentro de los sitios de estudio (Figura 2).

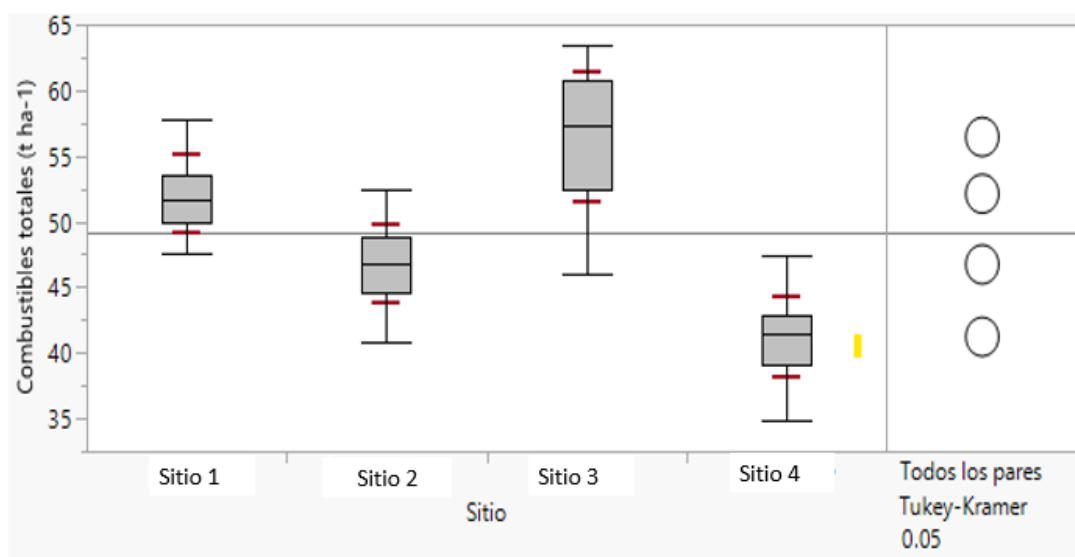


Figura 2. Diagrama de cajas que muestra la comparación de la carga de combustibles totales en los cuatro sitios evaluados (carga media + Desv. Std).

En el cuadro 3 se presentan los valores promedio obtenidos del total de combustibles forestales, el valor más alto corresponde al sitio 3 con una carga promedio de 56.44 ± 5.01 t ha⁻¹, mientras que la carga más baja se encontró en el sitio 4 con un promedio de 41.22 ± 3.07 t ha⁻¹.

Cuadro 3. Valores promedio de la carga de combustibles totales obtenidos en cada sitio evaluado ± su desviación estándar (Desv. Std.). Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Tukey-Kramer, P<0.05).

Sitio	No. de Líneas	Carga Media	Desv. Std	Error de muestreo (%)	Suma de Cuadrados	Estadístico F _{3/156}	valor P
Sitio 1	40	52.11 b	2.94	46.5	5226.13	134.12	<0.0001
Sitio 2	40	46.73 c	2.97	47			
Sitio 3	40	56.44 a	5.01	79			
Sitio 4	40	41.22 d	3.07	48.5			

Combustibles forestales de hojarasca

La cuantificación de los combustibles conformados principalmente por acículas de *Pinus* sp., mostraron 7.65 t ha⁻¹ como valor mínimo en el sitio 2 y el valor máximo encontrado en el sitio 1 que corresponde a 19.79 t ha⁻¹ utilizando desde 5 a 40 líneas de muestreo por hectárea de los cuatro sitios evaluados (Cuadro 4).

Cuadro 4. Esquemas de muestreo para estimar la carga total de combustibles leñosos en los cuatro sitios evaluados.

No. Líneas ha ⁻¹	Carga media (t ha ⁻¹)	D.E (t ha ⁻¹)	Error de muestreo (%)
<i>Sitio 1</i>			
5	16.59	4.22	189
10	18.12	3.41	107
15	18.43	3	77
20	18.93	2.79	62
25	19.32	2.77	55
30	19.57	2.62	47
35	19.79	2.52	42
40	19.71	2.47	39
<i>Sitio 2</i>			
5	14.6	2.11	94
10	14.32	1.66	52
15	14.35	1.54	40
20	7.95	1.17	23
25	7.84	1.3	24
30	7.73	1.27	21
35	7.65	1.35	21
40	13.42	2.24	35
<i>Sitio 3</i>			
5	15.37	2.75	123
10	15.81	2.77	87
15	14.86	3.39	87
20	15.16	3.3	73
25	15.29	3.04	61
30	15.44	2.93	53
35	15.49	2.79	47
40	15.55	2.73	43
<i>Sitio 4</i>			
5	9.08	0.83	37
10	8.79	0.85	27
15	8.4	1	25
20	8.27	1.02	23
25	7.95	1.17	23
30	7.84	1.3	24
35	7.75	1.29	21
40	7.67	1.35	21

En el sitio 2 al utilizar el esquema de muestreo con 30 líneas por hectárea, se obtuvo un promedio de combustibles de hojarasca de 7.73 t ha⁻¹ con una desviación estándar de 1.27 t ha⁻¹ y un error de muestreo del 21%, los cuales resultaron ser los más bajos respecto a los demás esquemas de muestreo. Para el caso del sitio 4, el esquema de muestreo más adecuado resultó ser el de 35 líneas por hectárea, para el cual se obtuvo un promedio de combustibles de hojarasca de

7.75 t ha⁻¹ con una desviación estándar de 1.29 t ha⁻¹ y un error de muestreo del 21%. En los sitios 1 y 3, se observó que el menor error de muestreo y desviación estándar se obtuvo utilizando las 40 líneas por hectárea. En estas 40 líneas, el sitio 1 muestra un promedio de 19.71 t ha⁻¹ de combustibles de hojarasca con una desviación estándar de 2.47 y un error de muestreo del 39 %, mientras que el sitio 3 presenta una media de 15.55 t ha⁻¹ con desviación estándar de 2.73 y error de muestreo correspondiente al 43% como se observa en el cuadro 4.

El análisis de varianza muestra que existen diferencias significativas en la carga promedio de combustibles de hojarasca entre los sitios evaluados, teniendo mayor acumulación en el sitio 1 y la carga de combustibles más baja en el sitio 4 (Figura 3).

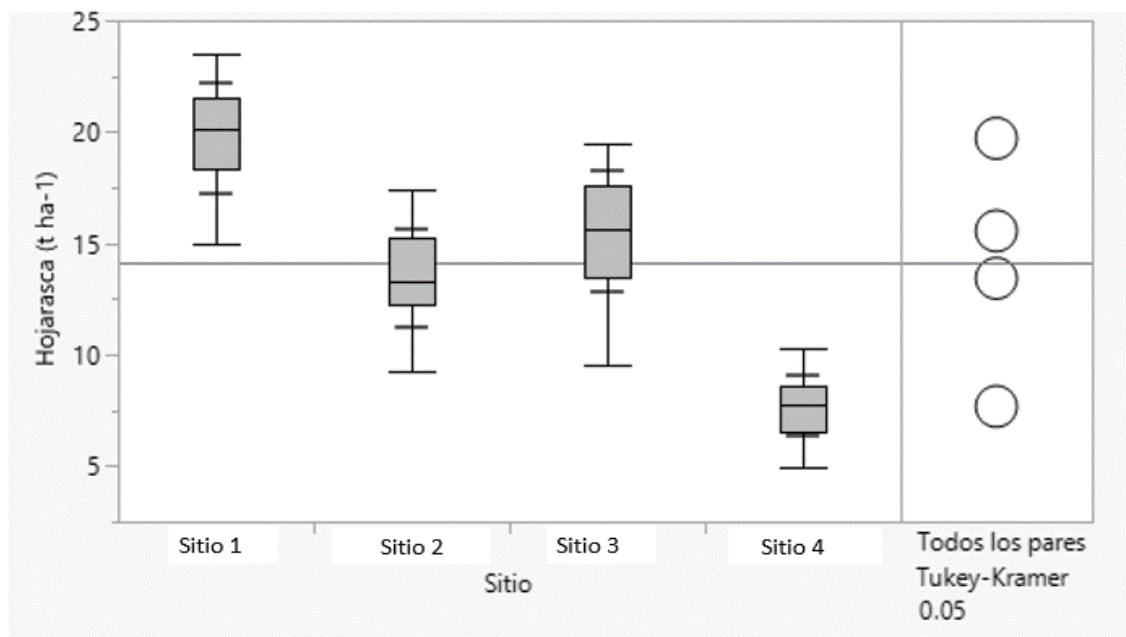


Figura 3. Diagrama de cajas que muestra la comparación de la carga de combustibles de hojarasca en los cuatro sitios evaluados (carga media + Desv. Std).

En el cuadro 5 se presentan los valores promedio obtenidos del total de combustibles forestales, el valor más alto corresponde al sitio 1 con una carga promedio de 19.71 ± 2.47 t ha⁻¹, mientras que la carga más baja se encontró en el sitio 4 con un promedio de 7.67 ± 1.35 t ha⁻¹.

Cuadro 5. Esquemas de muestreo para estimar la carga total de combustibles de hojarasca en los cuatro sitios evaluados.

Sitio	No. de Líneas	Carga Media	Desv. Std	Error de muestreo (%)	Suma de Cuadrados	Estadístico F _{3/156}	valor P
Sitio 1	40	19.71 a	2.47	39.1	3025.82	196.66	<0.0001
Sitio 2	40	13.42 c	2.24	35.4			
Sitio 3	40	15.55 b	2.72	43.1			
Sitio 4	40	7.67 d	1.35	21.3			

4. Discusión

Los resultados obtenidos en la presente investigación permiten rechazar la hipótesis que señala que no se presentan diferencias en el número de líneas adecuado para la determinación de la carga de combustibles leñosos y hojarasca, dado a que se presentan diferencias en el error de muestreo, el cual disminuye a medida que incrementa el número de líneas que se emplean en cada sitio (a excepción del sitio 2 en la evaluación de hojarasca donde el empleo de 30 o 35 líneas de intersección planar resulta más viable que el uso de 40 líneas).

Los resultados encontrados en este estudio son imprescindibles y denotan un primer esfuerzo para entender el rigor estadístico al momento de realizar el inventario de combustibles forestales, evitando con ello errores de muestreo que se reflejen en resultados atípicos. Sin duda, la técnica de levantamiento más utilizada para los combustibles muertos es la de intersecciones planares in situ, descrita por Brown et al. (1982) y aplicada recientemente por diversos autores (Rodríguez-Trejo et al., 2020; Ruiz-Corzo et al., 2022; Aguilar-Herrera, 2023; Barrios-Calderón et al., 2024), mediante la cual se estima su volumen por procedimientos rápidos y sencillos, con posibilidad de utilizarse en cualquier tipo de bosque (Bautista et al., 2005). La finalidad de conocer el número adecuado de líneas de intersección planar en un sitio de muestreo se deriva de la necesidad de reducir esfuerzos de campo en los inventarios de combustibles forestales. En el presente estudio se ha comprendido la variabilidad que puede existir entre un sitio y otro, por ello, el número de líneas de intersección planar a utilizar también deberá ser acorde a las condiciones de cada sitio evaluado y las variables dasométricas influyentes en su productividad (López-López et al., 2024).

La estimación de la carga de combustibles y las técnicas para su adecuado manejo, constituyen una herramienta de prevención de incendios que ha cobrado importancia en México y algunos países (Hyde et al., 2011; Flores-Garnica, 2021). Existen diversos estudios orientados a la cuantificación de combustibles forestales a nivel internacional como el de Mota (2005) en Brasil donde establece modelos de combustibles forestales. En Estados Unidos, Flores (2001) realizó el "Modeling the spatial variability of forest fuel arrays", donde con el uso de técnicas geoestadísticas diseña un modelo de variabilidad espacial de combustibles forestales, partiendo de un inventario en campo. Los trabajos de evaluación de combustibles forestales como los de Warren y Olsen (1964), Van Wagner (1968) y Brown (1971, 1974), han sido la base para los realizados en nuestro país.

En México, recientemente se han aplicado diferentes estrategias de muestreo que permitan efficientizar el cálculo de la carga de combustibles, empleando métodos estadísticos que permitan delimitar el tamaño del sitio y número adecuado de líneas de intersección, para la evaluación de material leñoso caído y hojarasca (Bautista et al., 2005, Morfín et al., 2007, Chávez Durán, 2016). Diversos estudios como el de Nájera y Hernández (2006) realizado en El Salto Durango es un antecedente importante en cuanto a la metodología a aplicar en esta investigación, obteniendo que el número de líneas adecuado para estimar la carga de combustibles leñosos fue de 25 líneas. A partir de ahí, ya es posible definir el número de líneas a establecer en todas las zonas a evaluar en ese tipo de bosques templados. Si bien es cierto, que el número de líneas y sitios de muestreo, dependerá de la estructura y composición arbóreas (López-López et al., 2024), Calleja-Peláez (2020) asevera que los estudios de combustibles forestales no toman en cuenta un criterio estadístico para definir el tamaño de la muestra, no obstante, esta investigación aplicada a un bosque templado monoespecífico de *Pinus oocarpa* denota un criterio estadístico que considera un mayor número de líneas de intersección planar, lo cual permite que la precisión en los cálculos aumenten, mientras que el error de muestreo disminuye.

5. Conclusiones

De manera general, el uso de 40 líneas de muestreo por hectárea garantiza mayor precisión en el muestreo de combustibles forestales. Es por ello que, a medida que se siga incrementando el número de líneas por hectárea, el error de muestreo tiende a reducirse en los sitios y clases de combustibles que mostraron mayor precisión con este número de líneas de intersección planar.

6. Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Chiapas por brindar las facilidades y el apoyo en la logística y realización de este proyecto que forma parte de la tesis de titulación de la primera autora.

7. Conflictos de interés:

Los autores declaran que no existe conflicto de interés y se han seguido todos los procedimientos éticos y requisitos necesarios.

Referencias

1. Aguilar Herrera, J. A. (2023). Caracterización de los combustibles forestales aéreos y comportamiento potencial del fuego en una plantación de *Callitropsis lusitanica* (Mill.) DP Little (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma Chapingo). <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/1d62bafb-0646-412d-a6ed-d79e9dce1403>
2. Barrios-Calderón, R. J., Infante-Mata, D., Flores-Garnica, J. G., Tovilla-Hernández, C., Grimaldi-Calderón, S. J. and García Alfaro, J. R. 2018. Woody fuel load in coastal wetlands of the La Encrucijada Biosphere Reserve, Chiapas, Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 24(3), 339-357. doi: 10.5154/r.rchscfa.2017.12.068
3. Barrios-Calderón, R. J., Infante Mata, D., Flores Garnica, J. G., Torres, J. R. Forest Fuel Bed Variation in Tropical Coastal Freshwater Forested Wetlands Disturbed by Fire. *Forests* 2024, 15, 158. doi: 10.3390/f15010158
4. Bautista, J., Treviño, E., Nívar, Aguirre, C. y Cantú, S. (2005). Caracterización de combustibles leñosos en el ejido Pueblo Nuevo, Durango. *Chapingo, serie ciencias forestales y ambiente*. 11 (001): 51-56. Recuperado de: <https://www.re-dalyc.org/articulo.oa?id=62911108>
5. Brown, J. K. (1971). A planar intersects method for sampling fuel volume and surface area. *Forest Science* 17, 96-102. doi: 10.1093/forestscience/17.1.96
6. Brown, J. K. (1974). Handbook for Inventorying Downed Woody Material; General Technical Report INT – 16; USDA Forest Service: Heber City, UT, USA, 1974; p. 24. Available online: <https://www.fs.usda.gov/research/treesearch/28647>
7. Calleja Peláez, B., López López, B., Méndez González, J., Ríos Camey, J. M. y Gutiérrez Merino, E. (2020). Tamaño de muestra para estimar cargas de combustible en bosque de encino en la región Montaña de Guerrero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 11(57), 174-195. doi: 10.29298/rmcf.v11i57.617
8. Chávez, D. Á., Xelhuantzi, C. J., Rubio, C. E., Villanueva, D. J., Flores, L. H. y de la Mora, O. C. 2016. Caracterización de cargas de combustibles forestales para el manejo de reservorios de carbono y la contribución al cambio climático. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13, 2589–2600. doi: 10.29312/remexca.v0i13.485.
9. Chen, Y., Zhu, X., Yebra, M., Harris, S., Tapper, N. (2017). Development of a predictive model for estimating forest surface fuel load in Australian eucalypt forests with LiDAR data, *Environmental Modelling & Software*, 97, 61-71. doi: 10.1016/j.envsoft.2017.07.007.
10. CONAGUA (2011). Atlas del agua en México 2011. México, DF: Comisión Nacional del Agua, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
11. Flores-Garnica, J. G. (2021). Antecedentes y perspectivas de la investigación en incendios forestales en el INIFAP. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 12(spe), 91-119. doi: 10.29298/rmcf.v12iEspecial-1.981
12. Flores-Garnica, J. G., Wong-González, J. C. y Paz-Pellat, F. (2018). Camas de combustibles forestales y carbono en México. *Madera y bosques*, 24(spe), e2401893. doi: 10.21829/myb.2018.2401893
13. Hyde, J. C., Smith, A. M. S., Ottmar, R. D., Alvarado, E. C. and Morgan, P. (2011). The combustion of sound and rotten coarse woody debris: a review. *International Journal of Wildland Fire*, 20, 163–174. doi: 10.1071/IWF09113
14. Keane, R. E., Burgan, R. and Van Wagtenonk, J. (2001). Mapping wildland fuels for fire management across multiple scales: Integrating remote sensing, GIS, and biophysical modeling. *International Journal of Wildland Fire*. 10: 301-319. doi: 10.1071/WF01028
15. López-López, B., Aguirre-Calderón, O. A., Jiménez-Pérez, J., González-Tagle, M. A., Alanís-Rodríguez, E. y Méndez-González, J. (2024). Variables dasométricas que determinan la carga de combustible en bosques de encino en Guerrero, México. *Ecosistemas Y Recursos Agropecuarios*, 11(2). doi: 10.19136/era.a11n2.3957
16. Nájera, A. (2015). Evaluación, cuantificación y manejo de combustibles forestales en plantaciones forestales. Manual del participante. Proyecto de Manejo Integrado del Fuego. Ministerio de Medio Ambiente. Panamá. 43 p.
17. Nájera, J.A. y Hernández, L. J. (2006). Estimación de la carga de combustibles forestales en un bosque coetáneo de El Salto, Durango. Tesis de Ingeniería Forestal en Manejo Sustentable de Recursos naturales. ITES. pp. 2-4
18. Quiroga Palacio, M. E. y Santiago Villa, H. M. (2019). Manejo del fuego como alternativa frente a los incendios forestales. El caso del Parque Entrenubes. *Ambiente Y Desarrollo*, 23(45). doi: 10.11144/Javeriana.ayd23-45.mfaf
19. Rodríguez, M. P. R., Acosta, Y., Vilar, C. C., Toala, T. O. M. y González, A. J. (2024). Comportamiento del fuego en quemas controladas en tierras de vocación forestal en Sancán, Manabí, Ecuador. *Revista Cubana de Ciencias Forestales: CFORES*, 12(1), 7. Recuperado a partir de <https://cfores.upr.edu.cu/index.php/cfores/article/view/831>
20. Rodríguez-Trejo, D. A., Martínez-Muñoz, P., Pulido-Luna, J. A., Martínez-Lara y P. J., Cruz-López, J. D. (2020) Combustibles, comportamiento del fuego y emisiones en un pastizal y una sabana artificiales en Chiapas, México. *Revista de Biología Tropical* 68: 641-654. doi: 10.15517/RBT.V68I2.33954
21. Ruiz-Corzo, R., Aryal, D. R., Venegas-Sandoval, A., Jerez-Ramírez, D. O., Fernández-Zúñiga, K. S., López-Cruz, S. del C., López-Hernández, J. C., Peña-Álvarez, B. y Velázquez-Sanabria, C. A. (2022). Dinámica temporal de combustibles forestales y efecto del incendio en Cerro Nambiyugua, Chiapas, México. *Ecosistemas Y Recursos Agropecuarios*, 9(2). doi: 10.19136/era.a9n2.3253
22. Sánchez, C. J., Zerocero, L. G. (1983). Método practico para calcular la cantidad de combustibles leñosos y hojarasca. Nota Divulgativa No 9 CIFONOR – INIF. México. 11 p.
23. Van Wagner, C. E. (1968). The line intersects method in forest fuel sampling. *For. Sci.* 14, 20-26.

24. Walker, X. J., Rogers, B. M., Veraverbeke, S., Johnstone, J. F., Baltzer, J. L., Barrett, K., Bourgeau-Chávez, L., Day, N. J., Groot, W. J., Dieleman, C. D., Goetz, S., Hoy, E., Jenkins, L. K., Kane, E. S., Parisien, M. A., Potter, S., Schuur, E. A. G., Turetsky, M., Whitman, E., Mack and M. C. (2020). Fuel availability not fire weather controls boreal wildfire severity and carbon emissions. *Nature Climate Change* 10: 1130-1136. doi: 10.1038/s41558-020-00920-8, 2020b
25. Warren, W.G. and Olsen, P.F. (1964). A Line Intersect Technique for Assessing Logging Waste. *Forest Science* 10, 267-276. doi:10.1093/forestscience/10.3.267

Disclaimer/Publisher's Note:

The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of SAV and/or the editor(s). SAV and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Citation: To be added by editorial staff during production.

Academic Editor: Firstname Lastname

Received: date

Revised: date

Accepted: date

Published: date31-05-2024



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Artículo

Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la obtención de enzimas termoestables degradadoras de pared celular vegetal utilizando un co-cultivo de basidiomicetos

Iosvany López-Sandín¹, Guadalupe Gutiérrez-Soto^{1*}, Joel Horacio Elizondo Luevano¹, Roberto Parra Saldívar¹, Monserrat Franco Flores¹, Diana Castillo Martínez¹, Denisse Melissa Garza Hernández².

¹ Facultad de Agronomía, Campus Ciencias Agropecuarias; Universidad Autónoma de Nuevo León; C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León; iosvany.lopezs@uanl.edu.mx (ILS); ggutierrez0402@gmail.com (GGS); joel.elizondolv@uanl.edu.mx (JHEL); ibqrps@gmail.com (RPS),

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León, cisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México, dgarzahr@uanl.edu.mx (DMGH).

* Correspondencia ggutierrez0402@gmail.com

Abstract: La producción enzimática de CMCasas, avicelasas, xilanasas, amilasas y lacasa un co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 fue evaluada en medios de cultivo sumergidos a base de residuos agroindustriales. Los resultados mostraron una sinergia en la producción de diversas enzimas, incluyendo CMCasas, avicelasas, xilanasas, amilasas y lacasas, cuando se utilizaron diferentes combinaciones de sustratos y suplementos. Si bien, se esperaba encontrar una sola condición para la máxima producción enzimática, en el tratamiento 4 se cuantificaron los mayores títulos de amilasas (445 UI⁻¹) y β-D-glicosidasa (1249 UI⁻¹). Los mayores títulos de CMCasas (1983 UI⁻¹) se presentaron en el medio Tx 5, mientras que los máximos niveles de avicelasas se detectaron en el medio Tx1(890 UI⁻¹). En el tratamiento Tx8 se presentó la mejor producción de xilanasas (837 UI⁻¹). Con respecto a la producción de lacasa, el mejor medio fue Tx9 con 142 UI⁻¹. Todas las hidrolasas mostraron una máxima actividad a 70 °C, que retienen a los 90 °C. Estos resultados nos permiten concluir que el co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 es una alternativa en la obtención de adyuvantes enzimáticos de bajo costo, con aplicaciones prometedoras en diversas industrias.

Palabras clave: bioeconomía circular; cáscaras de cítricos; valorización

1. Introducción

Los co-cultivos de basidiomicetos han emergido como una estrategia prometedora para la valorización de residuos agrícolas, tal como lo evidencian diversos estudios (Sarris et al., 2020). Bajo estas condiciones de crecimiento, la degradación y metabolización de los sustratos se ven potenciadas por la actividad metabólica conjunta de diferentes microorganismos dentro del mismo cultivo (Bader et al., 2010). A diferencia de los mono-cultivos, los co-cultivos de hongos de distintas especies se consideran una alternativa para potenciar la producción de metabolitos y enzimas, estimándose que pueden aumentar el rendimiento y la eficacia en la obtención de enzimas (Brijwani, et al., 2010).

El cultivo conjunto de dos especies de hongos en un entorno con limitación de nutrientes y condiciones ambientales específicas favorece su interacción, la cual puede ser de tipo antagonista o sinergista dependiendo de su naturaleza. En el antagonismo, los hongos producen metabolitos que inhiben el crecimiento de la otra especie presente en el co-cultivo. En contraste, el sinergismo se caracteriza por una interacción positiva en la que ambos hongos se benefician mutuamente (Intasit et al., 2021).

Las evidencias sobre la efectividad de los co-cultivos destacan su simplicidad y eficiencia, ya que no requieren de manipulaciones genéticas complejas ni del uso de reactivos químicos inductores costosos (Reyes et al., 2020). Además, el uso de diversas especies de hongos en un único cultivo permite la obtención de extractos enzimáticos ricos en diferentes tipos de enzimas, tales como celulasas, xilanasas y enzimas modificadoras de lignina (da Silva et al., 2022).

Las fermentaciones con cultivos mixtos también permiten aprovechar sustratos económicos e impuros. En la práctica industrial, se opta por el sustrato económico, que frecuentemente es una mezcla de varios materiales lignocelulósicos. En el procesamiento de biomasa, un cultivo mixto que degrade tanto la celulosa como el almidón y el azúcar es más eficiente. La combinación de hongos celulolíticos y levaduras que consumen almidón y azúcar conlleva a un proceso más efectivo, produciendo una mayor cantidad de producto en menos tiempo (Harrison et al., 1978).

El uso de diferentes especies fúngicas en co-cultivos puede potenciar la actividad de diversas enzimas lignocelulósicas, resultando en una mayor producción. Gutiérrez et al. (1999) demostraron que la combinación de especies de *Trichoderma* y *Aspergillus* incrementa la velocidad y el grado de hidrólisis de los sustratos en los que se cultivan, mejorando así la capacidad celulolítica. Hongos como *Pleurotus ostreatus* han demostrado tener buen sinergismo con otros hongos basidiomicetos aumentando la producción de lacasas en el co-cultivo (Velma y Madamwar, 2002; Baldrian, 2004; Dwivedi et al., 2011).

Con base en lo anterior, la presente investigación evalúa el efecto del co-cultivo de *Trametes maxima* CI 1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 en la producción enzimática utilizando residuos agroindustriales, así como el efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática.

2. Materiales y Métodos

2.1. Reactivos

Todos los reactivos y sustratos empleados en la presente investigación fueron adquiridos a la empresa Sigma-Aldrich (USA). Los medios de cultivo utilizados fueron de la marca MC de Lab (México).

2.2. Material biológico e inóculo

Las cepas fúngicas utilizadas en este estudio fueron *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2. Estas cepas son conservadas mediante resiembras periódicas en medio papa dextrosa agar (PDA) en el laboratorio de Ciencias Naturales de la Facultad de Agronomía.

Para la preparación del inóculo, se cultivaron las cepas en 100 ml de medio caldo papa dextrosa a 28 °C durante siete días. La siembra se realizó con dos discos de 0.5 cm de diámetro provenientes de un cultivo de 5 días de crecimiento. En el caso de los tratamientos con co-cultivo, se adicionó un disco de cada cepa. Los cultivos se homogenizaron utilizando una licuadora Oster® (México) durante tres ciclos de 30 segundos.

2.3. Material vegetal y medio de producción

Los residuos agroindustriales utilizados fueron obtenidos de comercios e industrias del área metropolitana de Monterrey. Los tratamientos se establecieron en 100 ml de una solución amortiguadora de fosfato de potasio 60 mM a pH 6.0, suplementada con un mililitro de solución de elementos traza 100x (FeSO₄ 1.0 g/l, ZnSO₄ 2.8 g/l y CaCl₂ 3.3 g/l). Los sustratos agroindustriales o combinaciones de ellos (Tabla 1) fueron agregados a la solución amortiguadora. Los medios se esterilizaron a 121 °C durante 30 minutos durante tres días consecutivos. Finalmente, fueron inoculados con 1 ml del inóculo homogeneizado obtenido de un cultivo de 5 días, como se describe en la sección 2.2.

2.4. Actividades enzimáticas

2.4.1. Actividad lacasa fue determinada siguiendo el método de Abadulla et al. (2000), utilizando 2,6-dimetoxifenol (DMP) como sustrato. La mezcla de reacción consistió en 2 mM de DMP en acetato de sodio 200 mM ajustado a pH 3.5. La absorbancia fue medida a 468 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu 1800 (Japón).

2.4.2. Actividad carbohidrolasa

La actividad de las carbohidrolasas se determinó mediante el método de azúcares reductores reportado por Miller (1959). La mezcla de reacción consistió en 500 µl de buffer citrato de sodio 50 mM ajustado a pH 5.0, 300 µl del sustrato correspondiente al 1% (p/v) y 200 µl de la muestra. Los sustratos utilizados fueron almidón, Avicel®, carboximetilcelulosa (CMC), D-(+)-celobiosa, xilano y pectina para determinar las actividades enzimáticas amilasas, avicelasas, carboximetilcelulasas (CMCasas), β-D-glucosidasas, xilanasas y pectinasas, respectivamente. La mezcla de reacción se incubó a 60 °C durante 15 minutos.

Para el cálculo de las unidades de enzima, fueron tomados 100 µl de la mezcla de reacción al tiempo 0 y al final de la incubación. Estas alícuotas se colocaron en tubos con 100 µl del reactivo de ácido dinitrosalicílico (DNS) para la

determinación de azúcares reductores. Las mezclas fueron hervidas durante 5 minutos y luego se colocaron en un baño de hielo durante 5 minutos. Fue agregado 1 ml de agua bidestilada antes de la lectura espectrofotométrica a 517 nm. Las curvas de calibración utilizadas fueron de glucosa, xilosa y ácido D-galacturónico en un rango de 0 a 1 mg. Una unidad de enzima (U) fue definida como la cantidad de enzima requerida para liberar 1 μmol de glucosa, xilano o ácido D-galacturónico por minuto. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado a 25 °C.

Tabla 1. Sustratos utilizados en mono y co-cultivo

Tratamiento	Sustrato(s)
Tx1	Paja de trigo (0.5%)
Tx2	Paja de trigo (0.5 %) + Cáscara de Naranja (5 %)
Tx3	Cáscara de Naranja (5 %)
Tx4	Paja de trigo (0.5 %) + Cáscara de Toronja (5 %)
Tx5	Cáscara de Toronja (5 %)
Tx6	Paja de trigo (0.5 %) + Cáscara de Mandarina (5 %)
Tx7	Cáscara de Mandarina (5 %)
Tx8	Paja de trigo (0.5 %) + Cáscara de Cacahuete (5 %)
Tx9	Cáscara de Cacahuete (5 %)

2.5 Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática.

Para evaluar el efecto de la temperatura sobre la actividad de las carbohidrolasas fue utilizada la reacción de azúcares reductores descrita en la sección 2.2, la cual fue incubada a 25, 50, 60, 70 y 80 °C. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. Los sobrenadantes utilizados aquellos que mostraron el mayor número de actividades enzimáticas.

2.6 Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de ANOVA para evaluar las diferencias estadísticas en la producción de enzimas al día 18 de crecimiento, con un nivel de confianza del 5%, utilizando el paquete estadístico SPSS Statistics. La prueba de comparación de medias se aplicó mediante el método de Tukey con una probabilidad del 5%.

3. Resultados

3.1. Producción enzimática

Las curvas de producción enzimática para el co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 y el mono-cultivo de *Trametes maxima* CU1 se muestran en la Figura 1. El co-cultivo exhibió la mayor actividad amilolítica en los medios Tx1, Tx2, Tx3, Tx4, Tx5 al día 18, alcanzando valores cercanos a las 400 U/l. En contraste, el mono-cultivo de *Trametes maxima* CU1 alcanzó su máxima producción en el medio Tx4 al día 20, con niveles inferiores a los 300 U/l (Figura 1A y 1B).

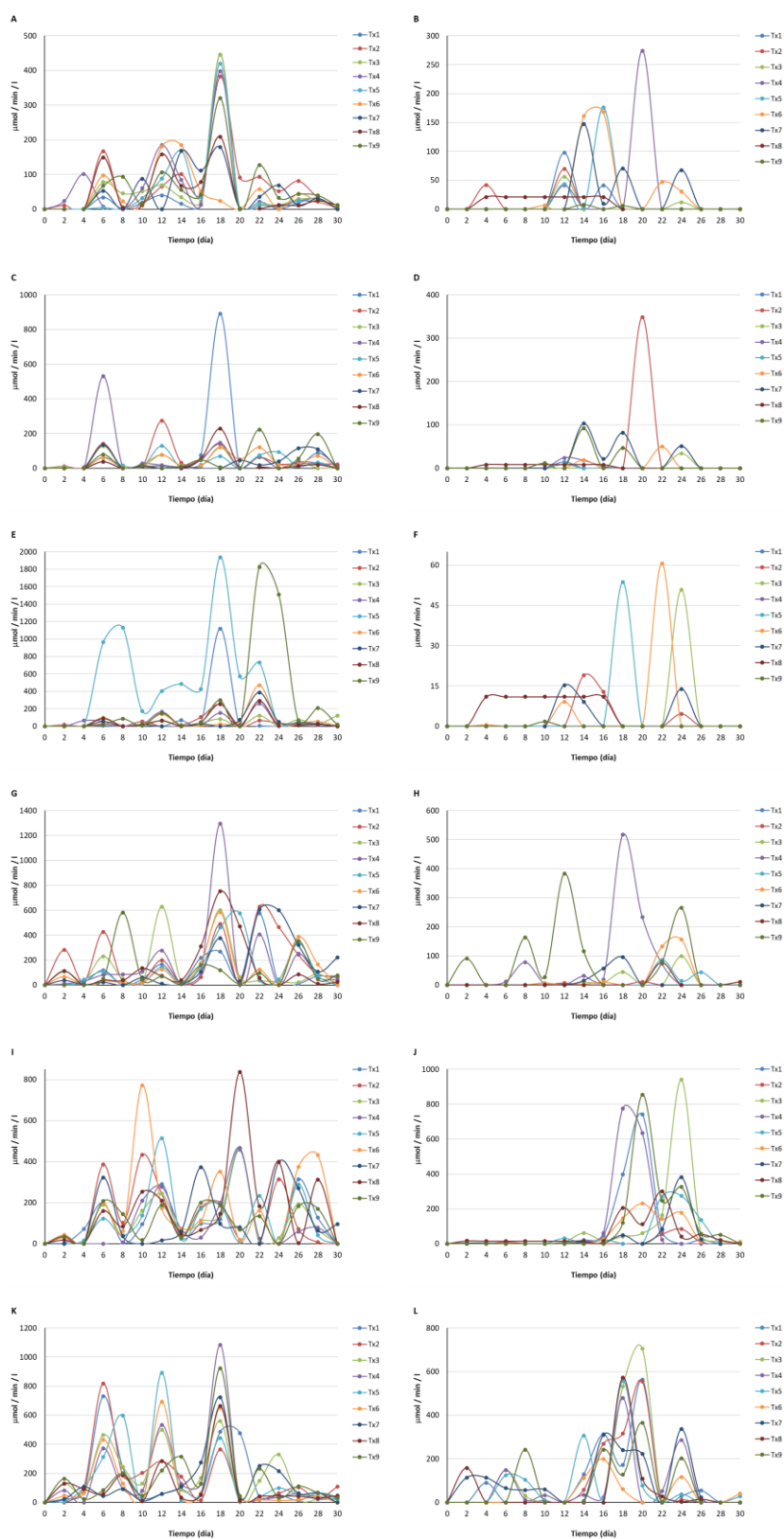


Figure 1. Producción enzimática en residuos agroindustriales. Donde A) corresponde a amilasas, C) Avicelases, E) CM cases, G) β -D-glucosidasas, I) xilanasas y K) pectinasas bajo condiciones de co-cultivo, mientras que B) corresponde a amilasas, D) Avicelases, F) CM Casas, H) β -D-glucosidasas, J) xilanasas y L) pectinasas de *Trametes maxima* CU1 en mono-cultivo. Los ensayos fueron realizados por triplicado y la desviación estándar fue menor al 5% entre las replicar.

En cuanto a la actividad celulásica, las avicelasas presentaron sus mayores títulos en el co-cultivo en el medio Tx1 al día 18, mientras que el mono-cultivo alcanzó su máximo en el medio Tx4 al día 20 (Figura 1C y 1D). Las CMCasas mostraron la mayor actividad en el co-cultivo en el medio Tx1, mientras que el medio Tx2 fue el mejor para el mono-cultivo (Figura 1E y 1F). La β -D-glucosidasa presentó un comportamiento similar al de las otras celulasas, con el co-cultivo alcanzando su máximo al día 18 y el mono-cultivo al día 20, ambos en el medio Tx4 (Figura 1G y 1H). Las xilanasas en el co-cultivo se detectaron principalmente en los medios Tx6 y Tx8 a los días 10 y 20, respectivamente. Por su parte, el mono-cultivo exhibió la mayor actividad en los medios Tx1, Tx3, Tx4 y Tx9 a los días 16, 20 y 24, respectivamente (Figura 1I y 1J). Los medios Tx4 y Tx3 mostraron las mayores actividades de pectinasas en el co-cultivo y el mono-cultivo a los días 18 y 20, respectivamente (Figura 1K y 1L).

En general, el co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 presentó mayores niveles de actividad enzimática, principalmente a los 18 días de crecimiento, mientras que el mono-cultivo alcanzó sus picos de producción al día 20 en la mayoría de las actividades. Sin embargo, no se observó un medio en particular donde se expresaran todas las actividades enzimáticas tanto en condiciones de mono-cultivo como en el co-cultivo. Además, el comportamiento de la cinética fue diferente en todos los medios para cada actividad.

Al analizar los niveles máximos de las enzimas determinadas en el co-cultivo y el mono-cultivo, fueron observadas diferencias entre ambos tratamientos en los diferentes medios de cultivo. En el caso de la amilasa, los medios Tx1, Tx3 y Tx5 mostraron títulos superiores a las 400 U/l en el co-cultivo, mientras que el mono-cultivo no superó las 300 U/l (Figura 2A). Esta diferencia en la producción enzimática representa un incremento significativo en el co-cultivo en comparación con el mono-cultivo.

La mayor actividad celulásica del co-cultivo se observó con la CMCasa, alcanzando 1938 U/l en el medio Tx5. Le siguieron la β -D-glucosidasa en el medio Tx5 (1294 U/l) y las avicelasas en el medio Tx1 (890 U/l). Estos niveles representaron un incremento en el co-cultivo en comparación con el mono-cultivo: 36 veces para la CMCasa (niveles máximos en Tx6), 2.5 veces para la β -D-glucosidasa (Tx4) y 2.3 veces para las avicelasas (Tx2) (Figura 2B-D).

A diferencia de las actividades amilásica y celulásica, la actividad xilanasas mostró mayores niveles en el mono-cultivo en comparación con el co-cultivo. Los medios Tx1, Tx3, Tx4 y Tx9 del mono-cultivo exhibieron una producción promedio de 830 U/l (Figura 2E), similar a los niveles promedios en ambos medios del co-cultivo (802 U/l). La mayor actividad pectinolítica se observó en el medio Tx4 del co-cultivo, con 1082 U/l, en comparación con las 705 U/l del medio Tx3 del mono-cultivo (Figura 2F). Esta diferencia también representa aumento en la producción enzimática del co-cultivo.

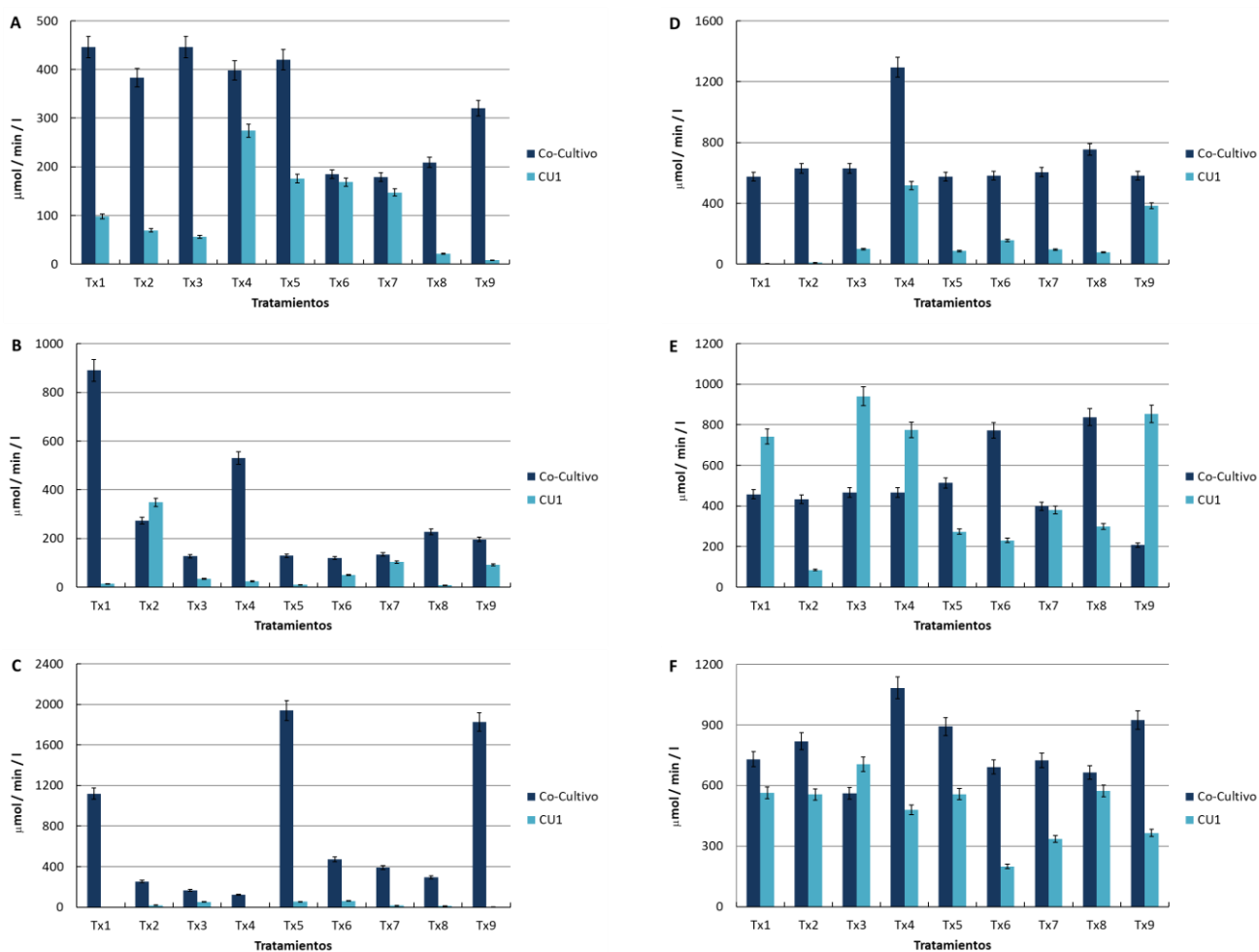


Figura 2. Producción enzimática. Donde A) corresponde amilasas, B) Avicelases, C) CM cases, D) β -D-glucosidasas, E) xilanasas y F) pectinasas.

La Figura 3 muestra las cinéticas de producción de lacasa en el co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 y el mono-cultivo de *Trametes maxima* CU1. Durante los primeros 16 días fue observado un comportamiento similar en ambos tratamientos, aunque los niveles de producción fueron mayores en el co-cultivo. A partir del día 18, los tratamientos de mono-cultivo experimentaron un descenso gradual en la actividad lacasa, mientras que el co-cultivo continuó produciendo la enzima a un ritmo constante. En ambos casos, la producción de lacasa se mantuvo después del día 20 y no se observaron cambios significativos al final del experimento.

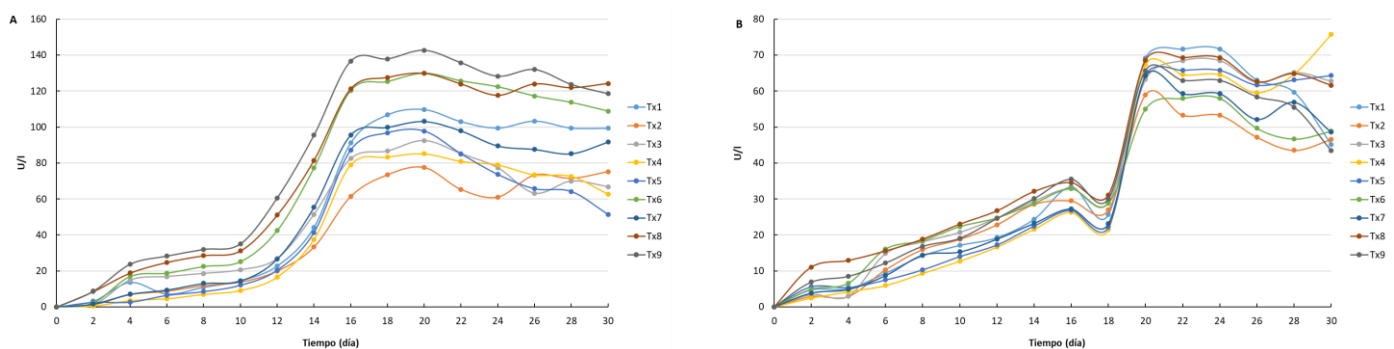


Figura 3. Cinética de producción de lacasa en co-cultivo (A) y en mono-cultivo (B).

3.2. Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática de carbohidrolasas.

Trametes maxima CU1 ha mostrado un potencial significativo en varias aplicaciones biotecnológicas debido a su robusto perfil enzimático. Como se mencionó anteriormente, bajo las condiciones de estudio, fue capaz de producir amilasas, celulasas, xilanasas, pectinasas y lacasas. Esta última ha sido reportada como una enzima termotolerante (Gutiérrez Soto. 2009). Por lo tanto, fue evaluado el efecto de la temperatura sobre las actividades carbohidrolasas detectadas, dado que la lacasa y carbohidrolasas producida por *Pycnoporus sanguineus* CS2 son consideradas termoestables (Martínez-Salcedo et al., 2015; Gutiérrez Soto et al., 2015).

Para determinar el efecto de la temperatura sobre las enzimas presentes, fueron seleccionados los sobrenadantes de los medios Tx1, Tx2 y Tx3, ya que presentaban la mayoría de las enzimas en altos títulos. En la Figura 4 se observa que los sobrenadantes del co-cultivo mostraron un mayor cambio de absorbancia, lo cual podría explicarse por la mayor concentración de enzimas. Sin embargo, las xilanasas, aunque mostraron los títulos más altos en el monocultivo en comparación con el co-cultivo, no presentaron un aumento significativo en la absorbancia. Por lo tanto, el incremento de la actividad con el aumento de la temperatura podría atribuirse a la producción de enzimas termoestables por *Pycnoporus sanguineus* CS2.

Cabe destacar que el sobrenadante del co-cultivo Tx2 mostró la mayor actividad enzimática a 70°C, mientras que el sobrenadante del mono-cultivo Tx3 presentó el mayor cambio de absorbancia (aunque menor que el co-cultivo) también a 70°C, demostrando la termotolerancia de las enzimas de *Trametes maxima* CU1. En consecuencia, la combinación de estas cepas para la recuperación de cócteles de amilasas, celulasas, xilanasas, pectinasas y lacasas termoestables tiene un gran potencial para aplicaciones industriales.

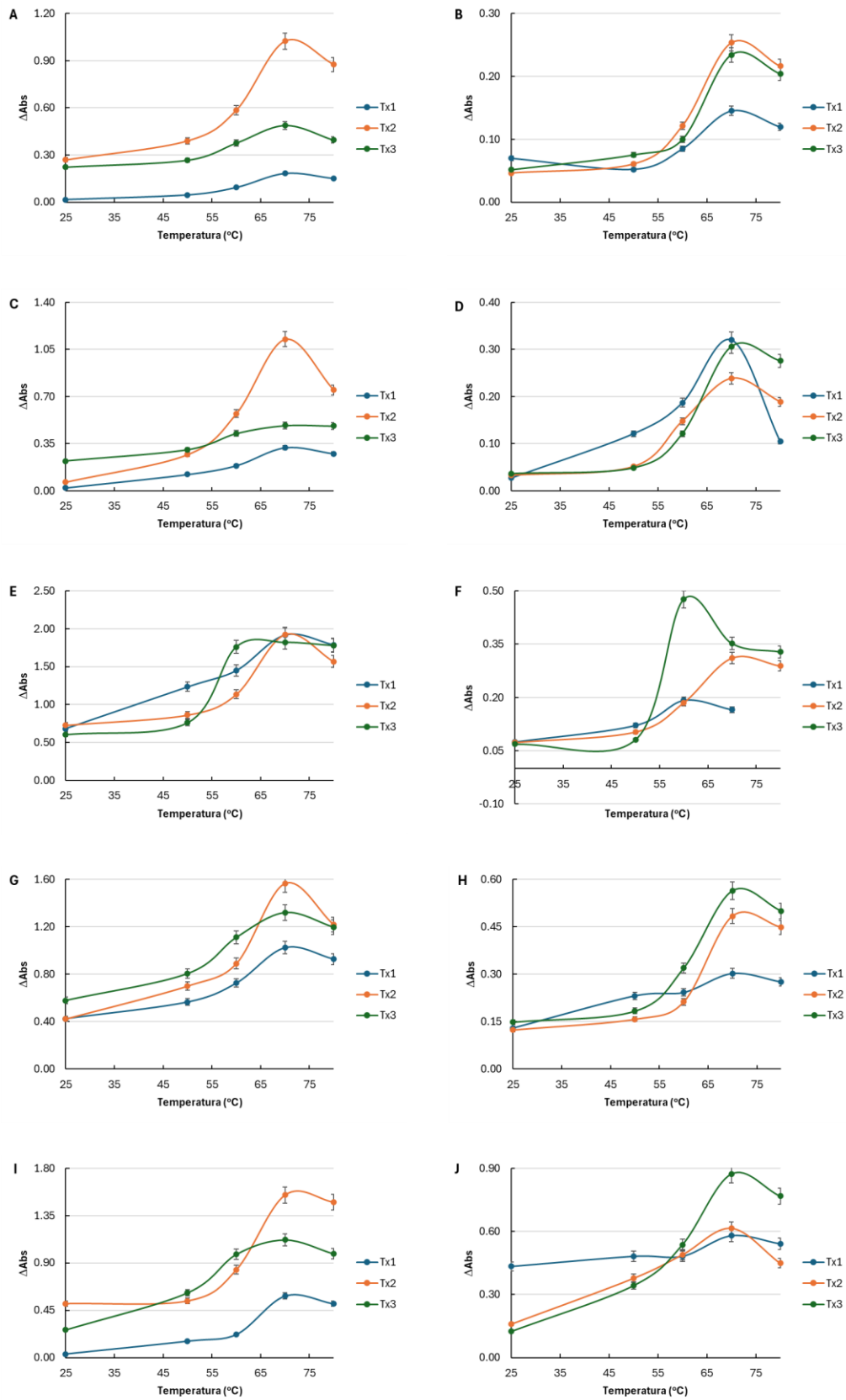


Figura 4. Efecto de la temperatura sobre las carbohidrolasas. Donde A, C, E, G e I corresponden a amilasas, Avicelastas, CMCAsas, β -D-glucosidasas, xilanasas y pectinasas del co-cultivo respectivamente, mientras que B, D, F, H y J corresponden a las actividades del mono-cultivo. Todos los tratamientos mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$).

4. Discusión

La evaluación del co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 frente al mono-cultivo de *T. maxima* CU1 para la producción enzimática en sustratos agroindustriales de bajo costo reveló resultados prometedores. El co-cultivo indujo una mayor actividad celulolítica en diversos tipos de sustratos, incluyendo cáscara de naranja, paja de trigo y cáscara de cacahuete. Este enfoque sinérgico condujo a una mayor producción de enzimas celulasas, xilanasas y lacasas. La actividad enzimática observada en el co-cultivo fue significativamente superior a la del mono-cultivo en la mayoría de los sustratos evaluados. La sinergia observada en el co-cultivo podría atribuirse a diversos mecanismos (Zhang et al., 2020b). La interacción entre las cepas fúngicas podría estimular la producción de enzimas a través de la secreción de metabolitos inductores o la competencia por nutrientes (Dullah et al., 2021). Además, el co-cultivo podría favorecer la degradación de la lignina, un componente recalcitrante de la biomasa, permitiendo un mayor acceso a la celulosa y hemicelulosa para las enzimas celulolíticas (Asiegbu et al., 1996). Cabe mencionar que, la producción enzimática en el co-cultivo se vio afectada por diversos factores como el tipo de sustrato, la humedad, la temperatura, el pH, la concentración de nutrientes adicionales y el tiempo de fermentación (Borchers et al., 2013; Fang y Xia, 2013; Abdu et al., 2022). Con respecto a la compatibilidad del co-cultivo también puede depender del tiempo y la cantidad de inóculo, considerados factores críticos (Hibbing et al., 2010). Mientras que, la elección del sustrato tuvo un impacto significativo en la producción enzimática. En este sentido, la cáscara de naranja, con su bajo contenido de lignina, resultó ser un sustrato favorable para la producción de pectinasas. En contraste, la paja de trigo, con su alto contenido de celulosa, indujo una mayor producción de celulasas.

En general las cinéticas de producción de enzimas revelaron patrones distintivos para cada enzima y tratamiento. En el caso de la producción de amilasas y celulasas alcanzó su máximo durante los primeros 20 días, seguido de una disminución gradual. Este comportamiento se ha atribuido al agotamiento inicial de azúcares solubles y a la represión de los genes promotores de la producción de enzimas (Quintero, 2021; Gutiérrez-Rojas et al., 2015; Nazir et al., 2010). Por otro lado, la producción de lacasa mostró un aumento continuo durante los primeros 16 días, seguido de una meseta en el co-cultivo y una ligera disminución en el mono-cultivo. Este comportamiento podría estar relacionado con la degradación gradual de la lignina y la liberación de compuestos aromáticos que inducen la producción de lacasa (Valmaseda et al., 1991; Sharma y Arora, 2010).

Con respecto a la termotolerancia, los resultados observados en el mono-cultivo de *Trametes maxima* CU1 fueron consistentes con los hallazgos de otros estudios, donde se ha demostrado que las cepas de *Trametes* producen enzimas con alta actividad y estabilidad en un rango de temperaturas y niveles de pH, lo que las hace adecuadas para aplicaciones industriales (Ado et al., 20218). Cabe mencionar que, el análisis del secretoma de *Trametes hirsuta* ha revelado una variedad diversa de enzimas extracelulares, incluidas enzimas ligninolíticas, celulolíticas y hemicelulolíticas, que variaron significativamente con las condiciones de crecimiento, lo que indica la adaptabilidad de las especies de *Trametes* a diferentes sustratos y entornos (Vasina et al., 2016). Además de explicar las diferencias de en los niveles y actividades presentes en los diferentes medios utilizados. Por otro lado, resultados con otro co-cultivos han demostrado mayor termoestabilidad que un monocultivo. Por ejemplo, el co-cultivo de las bacterias halófilas *Marinirhabdus* sp. y *Marinobacterhydrocarbonoclasticus* demostró una actividad de proteasa significativamente mejorada y estabilidad en un amplio rango de condiciones ambientales, incluyendo temperaturas de 25 °C a 60 °C, en comparación con los monocultivos (Anh et al., 2021). Lo que explica la mayor actividad en el co-cultivo *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2.

Finalmente, los resultados de este estudio demuestran el potencial del co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 para la producción enzimática eficiente y económica a partir de sustratos agroindustriales

de bajo costo. La sinergia observada en el co-cultivo podría conducir a un desarrollo más rápido y robusto de procesos biotecnológicos para la degradación de biomasa y la obtención de bioproductos de alto valor.

5. Conclusiones

Los resultados de este estudio demuestran el potencial sinérgico del co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 para la producción de un amplio espectro de enzimas celulolíticas y hemicelulolíticas. La combinación de ambas cepas resultó en un aumento significativo en la actividad enzimática, especialmente en la degradación de sustratos lignocelulósicos complejos. La termotolerancia de las enzimas producidas en co-cultivo, junto con su capacidad para actuar sobre una variedad de sustratos, sugiere un amplio rango de aplicaciones industriales. Estos hallazgos resaltan la importancia de explorar estrategias de co-cultivo para optimizar la producción de enzimas y promover el desarrollo de procesos biotecnológicos más eficientes y sostenibles para la conversión de biomasa en productos de alto valor agregado

6. Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo recibido por parte de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

7. Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

1. Abadulla, E., Tzanov, T., Costa, S., Robra, K.H., Cavaco-Paulo, A. and Gübitz, G.M., 2000. Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta*. *Appl Environ Microbiol*, 66, 3357-3362.
2. Abduh, M.Y., Ramadhan, C., Fadhlilah, A.P., Abdul, S.D., & Burhan, K.H. (2022). Solid-state fermentation of groundnut (*Arachis hypogaea*) shell using *Trichoderma* sp., tape yeast, and tempeh yeast to produce cellulase. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. Vol. 10(4), pp. 153-160. DOI: 10.7324/JABB.2022.100421.
3. Ado, B. V., Amande, T. J., Ebah, E. E., & Mabitine, D. M. (2018). Screening, production and partial characterization of a thermostable laccase from *Trametes* sp. isolate B7 with biotechnological potentials. *Biotechnology Journal International*, 22(4), 1-16.
4. Anh, H. T. H., Shahsavari, E., Bott, N. J., & Ball, A. S. (2021). Application of co-culture technology to enhance protease production by two halophilic bacteria, *Marinirhabdus* sp. and *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. *Molecules*, 26(11), 3141.
5. Asiegbu, F. O., Paterson, A., & Smith, J. E. (1996). The effects of co-fungal cultures and supplementation with carbohydrate adjuncts on lignin biodegradation and substrate digestibility. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12, 273-279.
6. Bader, J., Mast-Gerlach, E., Popović, M. K., Bajpai, R., & Stahl, U. (2010). Relevance of microbial coculture fermentations in biotechnology. *Journal of applied microbiology*, 109(2), 371-387.
7. Baldrian, P. (2004). Increase of laccase activity during interspecific interactions of white-rot fungi. *FEMS microbiology ecology*, 50(3), 245-253.
8. Borchers, S., Freund, S., Rath, A., Streif, S., Reichl, U., & Findeisen, R. (2013). Identification of growth phases and influencing factors in cultivations with AGE1. HN cells using set-based methods. *PLoS One*, 8(8), e68124.
9. Brijwani, K., Oberoi, H. S., & Vadlani, P. V. (2010). Production of a cellulolytic enzyme system in mixed-culture solid-state fermentation of soybean hulls supplemented with wheat bran. *Process Biochemistry*, 45(1), 120-128.
10. da Silva, Y. H., de Oliveira, T. B., Lima, M. S., Pasin, T. M., de Almeida Scarcella, A. S., de Moraes, M. D. L. T., ... & de Lucas, R. C. (2022). Co-Culture of *Trichoderma reesei*, *Talaromyces* sp. and *Aspergillus* spp. Produces A Multi-Enzyme Cocktail for the Hydrolysis of Sugarcane Bagasse Pretreated with Piperonic Acid (PIP) and Methylenedioxybenzoic Acid (MDCA).
11. Dullah, S., Hazarika, D. J., Parveen, A., Kakoti, M., Borgohain, T., Gautam, T., ... & Boro, R. C. (2021). Fungal interactions induce changes in hyphal morphology and enzyme production. *Mycology*, 12(4), 279-295.
12. Dwivedi Brijwani, K., Oberoi, H. S., & Vadlani, P. V. (2010). Production of a cellulolytic enzyme system in mixed-culture solid-state fermentation of soybean hulls supplemented with wheat bran. *Process Biochemistry*, 45(1), 120-128.
13. Fang, H., & Xia, L. (2013). High activity cellulase production by recombinant *Trichoderma reesei* ZU-02 with the enhanced cellobiohydrolase production. *Bioresource technology*, 144, 693-697.
14. Gutiérrez Soto, J. G. (2009). *Purificación y caracterización parcial de las lacasas de Trametes maxima CU1 y su aplicación en la degradación de colorantes textiles* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).

15. Gutiérrez Soto, J. G., Medina González, G. E., García Zambrano, E. A., Treviño Ramírez, J. E., & Hernández Luna, C. E. (2015). Selection and characterization of a native *Pycnoporus sanguineus* strain as a lignocellulolytic extract producer from submerged cultures of various agroindustrial wastes. *BioResources*, 10(2).
16. Gutiérrez-Rojas, I., Moreno-Sarmiento, N., & Montoya, D. (2015). Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32(1), 1-12
17. Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R., & Peterson, S. B. (2010). Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature reviews microbiology*, 8(1), 15-25.
18. Javed, M. M., & Khan, T. S. (2006). An innovative approach for hyperproduction of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes by consortium of *Aspergillus niger* MSK-7 and *Trichoderma viride* MSK-10. *African journal of Biotechnology*, 5(8), 609-614.
19. Martínez, S. M. S., Gutiérrez-Soto, G., Garza, C. F. R., Galván, T. J. V., Cordero, J. F. C., & Luna, C. E. H. (2013). Purification and partial characterization of a thermostable laccase from *Pycnoporus sanguineus* CS-2 with ability to oxidize high redox potential substrates and recalcitrant dyes. *Applied Bioremediation-Active and Passive Approaches*, 351.
20. Nazir, A., Soni, R., Saini, H. S., Kaur, A., & Chadha, B. S. (2010). Profiling differential expression of cellulases and metabolite footprints in *Aspergillus terreus*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 162, 538-547
21. Reyes-Calderón, A., Garcia-Luquillas, K. R., Ludeña, Y., Hernández-Macedo, M. L., Villena, G. K., & Samolski, I. (2020). A simple and accurate method for specific quantification of biomass in mixed cultures of filamentous fungi by quantitative PCR. *Revista peruana de biología*, 27(1), 085-090.
22. Sarris, D., Philippoussis, A., Mallouchos, A., & Diamantopoulou, P. (2020). Valorization of low-cost, carbon-rich substrates by edible ascomycetes and basidiomycetes grown on liquid cultures. *FEMS microbiology letters*, 367(20), fnaa168.
23. Sharma, R. K., & Arora, D. S. (2010). Production of lignocellulolytic enzymes and enhancement of in vitro digestibility during solid state fermentation of wheat straw by *Phlebia floridensis*. *Bioresource Technology*, 101(23), 9248-9253.
24. Valmaseda, M., Martínez, M. J., & Martínez, A. T. (1991). Kinetics of wheat straw solid-state fermentation with *Trametes versicolor* and *Pleurotus ostreatus*—lignin and polysaccharide alteration and production of related enzymatic activities. *Applied microbiology and biotechnology*, 35, 817-823.
25. Vasina, D. V., Pavlov, A. R., & Koroleva, O. V. (2016). Extracellular proteins of *Trametes hirsuta* s t. 072 induced by copper ions and a lignocellulose substrate. *BMC microbiology*, 16, 1-14.
26. Zhang, J., Ke, W., & Chen, H. (2020a). Enhancing laccase production by white-rot fungus *Trametes hirsuta* SSM-3 in co-culture with yeast *Sporidiobolus pararoseus* SSM-8. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 50(1), 10-17.
27. Zhang, Q., Zhao, L., Li, Y., Wang, F., Li, S., Shi, G., & Ding, Z. (2020b). Comparative transcriptomics and transcriptional regulation analysis of enhanced laccase production induced by co-culture of *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* with *Rhodotorula mucilaginosus*. *Applied microbiology and biotechnology*, 104, 241-255.

Descargo de responsabilidad/Nota del editor: Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones son responsabilidad exclusiva de los autores y colaboradores individuales y no de SAV y/o el/lo editor/es declinan toda responsabilidad por daños personales o materiales derivados de ideas, métodos, instrucciones o productos a los que se haga referencia en el contenido.

Cita: López-Sandin, I., Gutiérrez-Soto, G., Elizondo Luevano, J. H., Parra Saldivar, R., Franco Flores, M., Castillo Martínez, D., & Garza Hernández, D. M. (2024). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la obtención de enzimas termoestables degradadoras de pared celular vegetal utilizando un cultivo de basidiomicetos. *Scientia Agricolis Vita*, 1(2), 12–21. <https://doi.org/10.29105/agricolis.v1i2.18>.

Recibido: fecha

Revisado: fecha

Aceptado: fecha

Publicado: 31-05-2024



Copyright: © 2023 por los autores. Presentado para su posible publicación en acceso abierto bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Artículo de Revisión científica

Explorando el potencial antimicrobiano de plantas medicinales contra la caries dental

Marcela A. Gloria-Garza¹, Ramiro Quintanilla-Licea², Gustavo Raúl Reyna-Martínez³, Joel H. Elizondo-Luevano^{4,*}

¹ Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Nuevo León, Dr. Eduardo Aguirre Pequeño, Monterrey, C.P. 64460, Nuevo León, México; marcela.gloriagz@uanl.edu.mx (M.A.G.-G.).

² Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Universidad S/N, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, C.P. 66455 Nuevo León, México; ramiro.quintanillalc@uanl.edu.mx (R.Q.-L.).

³ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Universidad S/N, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, C.P. 66455 Nuevo León, México; gustavo.reynamr@uanl.edu.mx (G.R.R.-M.).

⁴ Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Francisco I. Madero S/N, Ex Hacienda el Cañada, Cd. Gral. Escobedo, C.P. 66050, Nuevo León, México; joel.elizondolv@uanl.edu.mx (J.H.E.-L.).

* **Correspondencia:** joel.elizondolv@uanl.edu.mx (J.H.E.-L.)

Abstract: Las enfermedades bucodentales son un importante problema de salud pública y se encuentran entre las más prevalentes a nivel mundial. La caries dental es la enfermedad más común de la cavidad bucal ocupando el primer lugar, pone en peligro al ser humano durante toda su vida, no sólo durante la infancia o la adolescencia, siendo la causa más común de pérdida de dientes y dolor en la cavidad bucal. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) es la principal bacteria asociada al desarrollo de caries dental, se adhiere a la superficie del diente y provoca la formación de biopelículas, a partir de los azúcares de la dieta sintetiza glucanos que contribuyen en la fijación a la superficie dental liberando ácidos que desmineralizan el tejido dentario y desarrollan caries dental. El control mecánico de la placa, la higiene bucal diaria y el uso de agentes antimicrobianos en dentríficos y colutorios contribuyen a inhibir la acumulación de placa y el crecimiento de biopelículas dentales. Sin embargo, la importancia de explorar agentes antimicrobianos a partir de compuestos naturales contribuirá a proporcionar tratamientos nuevos y eficaces para la prevención de las enfermedades bucodentales.

Palabras Clave: Bacteria; Productos naturales; Plantas terapéuticas; Odontología preventiva; *Streptococcus mutans*.

Exploring the antimicrobial potential of medicinal plants against dental caries

Abstract: Oral diseases are a major public health problem and are among the most prevalent worldwide. Dental caries is the most common disease of the oral cavity, occupying the first place, endangering human beings throughout their lives, not only during childhood or adolescence, being the most common cause of tooth loss and pain in the oral cavity. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) is the main bacterium associated with the development of dental caries; it adheres to the tooth surface and causes the formation of biofilms; from the sugars in the diet, it synthesizes glucans that contribute to the fixation of the tooth surface releasing acids that demineralize the dental tissue and develop dental caries. Mechanical plaque control, daily oral hygiene, and antimicrobial agents in toothpastes and mouthwashes inhibit plaque accumulation and the growth of dental biofilms. However, the importance of exploring antimicrobial agents from natural compounds will contribute to providing new and effective treatments for the prevention of oral diseases.

Keywords: Bacteria; Natural products; Plant therapies; Preventive dentistry; *Streptococcus mutans*.

1. Introducción

Las enfermedades bucodentales se encuentran entre las enfermedades más comunes en todo el mundo y que el ser humano suele padecer a lo largo de la vida. La Organización Mundial de la Salud estima que aproximadamente la mitad de las personas padecen enfermedades bucodentales. Las enfermedades dentales son sin duda un problema de salud pública y se encuentran entre las enfermedades más prevalentes a nivel mundial (Chen *et al.*, 2020). La enfermedad más

común de la cavidad bucal, conocida como caries dental, ocupa el primer lugar, es un importante problema de salud en la mayoría de los países industrializados, en los que muchos niños y adultos padecen la enfermedad (Pitts *et al.*, 2021). Alrededor de 2.4 millones de personas tienen caries permanentes y 532 millones de niños también se ven afectados por caries primaria (Coelho dos Santos *et al.*, 2022). Un estudio epidemiológico reciente mostró que el número mundial de casos de caries en los dientes permanentes aumentó un 46.1% de 1990 a 2019 (Grabek-Lejko & Hyrchel, 2023). La boca está colonizada por 700 a 1000 especies microbianas, pero sólo algunas de ellas son responsables de la caries dental (Mosaddad *et al.*, 2019). *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) es uno de los principales agentes etiológicos, esta bacteria es clave para el desarrollo de caries dental (Wolfviz-Zilberman *et al.*, 2021). *S. mutans* es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, acidógena y acidúrica que habita de forma natural en la cavidad oral (Ben-Zaken *et al.*, 2021), su potencial cariogénico está directamente relacionado con su actividad metabólica y el desarrollo de mecanismos que permiten a la bacteria integrarse en la biopelícula dental y colonizar las superficies dentales (Grabek-Lejko & Hyrchel, 2023) (Figura 1).

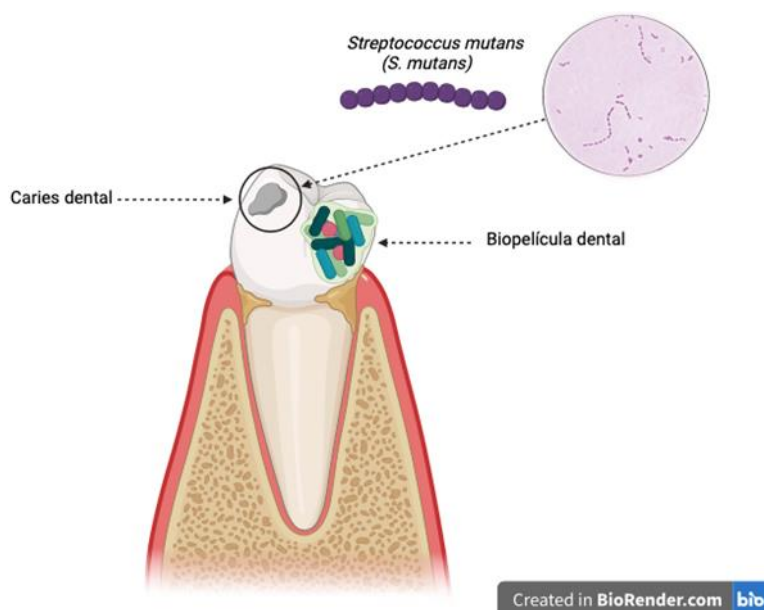
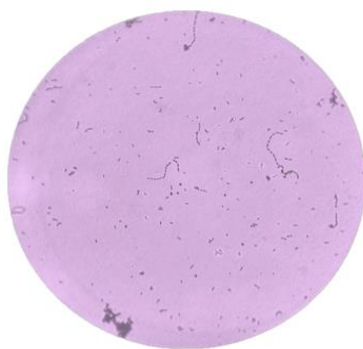


Figura 1. *S. mutans* principal agente etiológico de caries dental.

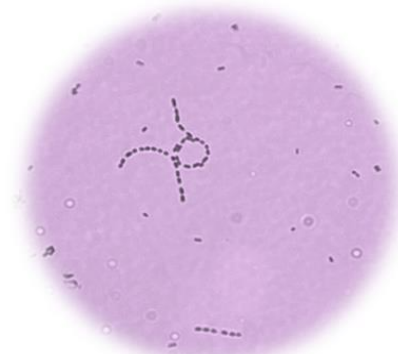
S. mutans produce ácidos orgánicos durante el metabolismo de los carbohidratos de la dieta, sobrevive en condiciones de pH bajo y es capaz de sintetizar sustancias poliméricas extracelulares (EPSs). La producción de EPSs (glucanos y fructanos) a partir de azúcares promueve el crecimiento bacteriano, y su adherencia a la superficie dental, dando lugar a la formación de una biopelícula en las superficies dentales (Grabek-Lejko & Hyrchel, 2023), el glucano favorece la acumulación de estreptococos cariogénicos en los dientes, aumentando la patogenicidad de la biopelícula (Zhu *et al.*, 2023). La biopelícula dental es el principal factor etiológico de la caries dental (Figura 2).



a)



b)



c)

Figura 2. Colonias de *S. mutans* en agar mitis salivarius pueden exhibir una burbuja brillante en la superficie debido a la síntesis excesiva de glucano a partir de sacarosa (a). Bacteria Gram positiva de acuerdo con la clasificación de la tinción de Gram (b). Morfología esférica "cocos" agrupados en forma de "cadena" (c). Fuente propia, fotografías tomadas por M.A.G.-G.

A menos que las biopelículas se controlen adecuadamente, pueden provocar una serie de interacciones complejas, la desmineralización del diente y la inflamación sistémica. En general, se acepta que los enfoques mecánicos, como el cepillado dental y el uso del hilo dental, son fundamentales para controlar las biopelículas dentales (Takenaka *et al.*, 2019). Para complementar el control mecánico de la placa y aumentar la higiene bucal diaria, se incluyen agentes antimicrobianos en dentríficos y colutorios para inhibir la acumulación de placa y el crecimiento de biopelículas dentales en zonas a las que no se puede acceder fácilmente con el cepillado (Chatzopoulos *et al.*, 2022). Para controlar la caries mediada por bacterias patógenas, se utilizan ampliamente productos de higiene dental y bucal como dentríficos y colutorios que consisten en compuestos químicos, como fluoruro, clorhexidina (CHX), triclosán, lauril sulfato sódico, cloruro de cetilpiridinio y clorofila. También, compuestos vitamínicos y probióticos; además, antibióticos como la amoxicilina, la eritromicina y la penicilina se utilizan ampliamente en la clínica dental para suprimir el crecimiento microbiano (Yang & Kang, 2020; Isola, 2020; Heliawati *et al.*, 2022; Milia *et al.*, 2023).

El uso de estos productos de higiene bucal ha sido muy eficaz, pero con algunos inconvenientes (Oluwasina *et al.*, 2019). La mayoría de estos productos comerciales están preparados con componentes químicos que pueden presentar reacciones no biocompatibles por su contacto directo con el tejido bucal (Yang *et al.*, 2020). El flúor es tóxico si se usa en exceso, no se recomienda en niños menores de 6 años, provoca pigmentación de los dientes y debilitamiento del esmalte (Oluwasina *et al.*, 2019), la CHX ejerce efectos bacteriostáticos y bactericidas contra diversos microorganismos, sigue siendo el estándar de oro entre los antisépticos, sin embargo, su uso crónico desarrolla efectos secundarios como la tinción amarillo-marrón del tercio cervical y zonas interproximales de los dientes, alteración de las sensaciones gustativas, sensación de quemazón, dolor, sequedad de los tejidos blandos orales, lesiones descamativas y ulceraciones de la mucosa gingival, aumento de la formación de cálculos supragingivales y elevada citotoxicidad contra los fibroblastos y osteoblastos humanos (Chatzopoulos *et al.*, 2022; Kumar *et al.*, 2022; Milia *et al.*, 2023). En el caso del triclosán, no se fija bien en la cavidad oral debido a su fuerte carga positiva. Los antibióticos reportan efectos secundarios como náuseas, vómitos, diarrea y otros (Milia *et al.*, 2023) y con el uso excesivo de agentes antimicrobianos, más microorganismos cariogénicos se vuelven resistentes a ciertos antibióticos, la resistencia a los medicamentos es casi un problema de un siglo (Milutinovici *et al.*, 2021). Por esta razón, el descubrimiento de nuevos agentes antimicrobianos a partir de compuestos naturales ayuda a proporcionar estrategias eficaces para la prevención microbiana en la clínica (Zhu *et al.*, 2023).

Por lo anterior, el objetivo de esta revisión es resumir las principales plantas medicinales utilizadas contra la caries dental, su aplicación y sus propiedades antimicrobianas. El tratamiento de enfermedades causadas por microorganismos con el uso de productos naturales como agentes terapéuticos pueden generar importantes ventajas en comparación con los fármacos sintéticos. Las plantas medicinales, debido a su amplia actividad biológica, son fuentes potenciales para el desarrollo de nuevos fármacos, incluyendo agentes antimicrobianos (Coelho-Dos Santos *et al.*, 2022).

2. Materiales y Métodos

Recopilamos información publicada entre los años 2019 a 2023 de bases de datos científicas como PubMed, ResearchGate y ScienceDirect. Nuestra búsqueda incluyó las palabras clave Bacteria; Caries; Etnofarmacología; Extractos; Plantas medicinales; Productos naturales; Plantas terapéuticas; Odontología preventiva, que utilizamos como filtros para buscar en todos los campos. Tras la búsqueda, se leyeron detenidamente los resúmenes de los artículos y se seleccionaron los estudios pertinentes para su revisión. Nuestros criterios de elegibilidad incluyeron artículos originales en inglés o español que discutieran o utilizaran plantas medicinales, biopelícula y caries dentales.

3. Resultados

3.1 HISTORIA Y EVOLUCIÓN DEL USO DE PLANTAS MEDICINALES EN ODONTOLOGÍA

3.1.1 Una mirada a la historia de la fitoterapia en odontología

La naturaleza está dotada de plantas para uso humano, pero el mundo, por un afán de desarrollo moderno, ha pasado por alto esta potente provisión de las "plantas". Se ha demostrado ampliamente que las plantas medicinales, que incluyen preparados de plantas y compuestos fitoterapéuticos, tienen beneficios terapéuticos reales para los seres humanos (Isola, 2020). Los compuestos fitoquímicos son componentes químicos que se encuentran de forma natural en diferentes partes de las plantas y que hacen que muchas especies sean beneficiosas para usos terapéuticos (Sharma *et*

al., 2022). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que alrededor del 80% de la población mundial utiliza productos fitoterapéuticos como extractos, vitaminas, té, y otros principios similares por diversas razones para el tratamiento de diversas patologías, este alto consumo de productos a base de plantas es atribuible al gran margen de seguridad y tolerabilidad de los agentes naturales. Se ha demostrado que las plantas medicinales poseen una amplia y específica gama de propiedades biológicas que incluyen efectos antimicrobianos, antioxidantes, antiinflamatorios, antifúngicos, antivirales y analgésicos orales (Isola, 2020; Milutinovici *et al.*, 2021).

Desde tiempos inmemoriales, los materiales vegetales se han utilizado tradicionalmente para el lavado dental o como palo de mascar para mantener la salud dental y aumentar la higiene bucal (Oluwasina *et al.*, 2019). Los primeros informes sobre la aplicación de medicamentos a base de plantas en la salud oral están relacionados con la medicina tradicional india y china. Se ha mencionado que Hipócrates sugirió una combinación de alumbre, sal y vinagre como enjuague bucal. El manuscrito religioso Talmud, que data de 1800 años, recomendaba el uso de "agua de masa" y aceite de oliva para la salud bucal. El médico griego Pedanius Discorides propuso una combinación de vino, leche y extracto herbal de hojas de olivo y granada (Moghadam *et al.*, 2020). Los babilonios, en el año 3500 a.C., utilizaban palillos de mascar "Miswak" derivados de plantas que se obtienen del árbol Arak, es una de las herramientas de higiene bucal más antiguas que se conocen, y es utilizada por muchas culturas desde la antigüedad (Shaalan & El-Rashidy, 2023). Los principales libros de medicina tradicional persa, como al-Hawā fī al-tibb de Rhazes (854-925 d.C.), al-Qanun fī al-tibb de Avicena (980-1037 d.C.) y Zakhireye Kharazmshahi de Esama'il Gorgani (1040-1136 d.C.), presentan un capítulo sobre las enfermedades de los dientes y la cavidad oral (Sedigh-Rahimabadi *et al.*, 2017).

3.1.2 Desarrollo de tratamientos basados en plantas

La reciente introducción de la Fitoodontología como terapia alternativa, que utiliza las propiedades medicinales de plantas para tratar diversas afecciones bucodentales, ha proporcionado un sustituto potencialmente seguro y rentable de los medicamentos sintéticos (Eltay *et al.*, 2021). Las plantas se han utilizado durante siglos para prevenir y controlar las enfermedades dentales. Los extractos de plantas son eficaces porque interactúan con determinados receptores químicos del organismo (Amanpour *et al.*, 2023). La salud bucodental está determinada por el equilibrio de bacterias comensales y patógenas en la cavidad bucal. Aquí, la microbiota comensal es dominante. Las enfermedades orales se caracterizan por una ruptura de este equilibrio homeostático y dan lugar a un asentamiento de bacterias patógenas (Flemming *et al.*, 2021). Las enfermedades orales más prevalentes están fuertemente asociadas a una pérdida de la homeostasis microbiana y al desarrollo de biopelículas dentales (Milia *et al.*, 2023). En las biopelículas orales se encuentran especies microbianas como *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *S. mutans*, *Veillonella dispar*, *Fusobacterium nucleatum* y muchas otras. La caries dental se considera actualmente una disbiosis que implica interacciones entre la estructura dental, la biopelícula microbiana y la exposición al azúcar (Valadas *et al.*, 2019). Se sabe que *S. mutans* es el principal microorganismo implicado en la caries dental. La inhibición de la actividad de esta bacteria minimiza el riesgo de caries dental. Se ha investigado ampliamente la aplicación de extractos de plantas contra este microbio (Moghadam *et al.*, 2020). Los aspectos más destacados de las investigaciones recientes sobre la aplicación de plantas medicinales *in vitro* e *in vivo* contra la caries dental se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Aplicación de plantas medicinales contra caries dental en modelos *in vitro* e *in vivo*.

<i>In vitro</i>					
Plantas medicinales	Parte de la planta utilizada	Método de extracción	Composición fitoquímica de los extractos	Mecanismo de acción	Referencias
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Corteza	Soxhlet	Cinamaldehído	Interfiere en la transferencia de electrones e inhibe la formación de la biopelícula dental	(Elgamily <i>et al.</i> , 2019)
<i>Curcuma longa</i>	Raíz		Diferuloilmetano, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina		
<i>Zingiber officinale</i>	Fruto		Flavonoides y saponinas		

<i>Syzygium aromaticum</i>	Fruto					
<i>Nigella sativa</i>	Semilla					
<i>Allium sativum</i>	Bulbo	Maceración en frío	Alicina, metiína y S-alilcisteína	Inhibe la síntesis de ADN y ARN bacterianos		
<i>Aloe vera</i>	Pulpa		Lignina, bradiquinasa y ácido salicílico	Estimula macrófagos		
<i>Camelia sinensis</i>	Hoja	Soxhlet	Proteínas, vitaminas, minerales, catequinas y polifenoles	Inhibe la adhesión de <i>S. mutans</i>		
<i>Citrus aurantifolia</i>	Fruto		Carbohidratos, alcaloides, flavonoides, esteroides y antraquinonas	Inhibe la adherencia bacteriana		
<i>Cocos nucifera</i>	Fruto	Prensado en frío	Polifenoles, citoquininas y auxinas			
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Raíz		Liquirtina, isoliquertina, liquiritigenina, rhamnoliquirilina, glabridina, glicirricina y glicirrizol-A, flavonoides y saponinas	Impide la formación de biopelículas dentales y estimula el sistema inmunitario del huésped		(Milutinovici et al., 2021)
<i>Grape seed extract</i>	Semilla	Soxhlet	Fenoles, proantocianidinas	Resistencia a la tracción		
<i>Hypericum perforatum</i>	Hoja		Flavonoides, taninos, aceites volátiles y tronas naftódicas	Aumento de la actividad antibacteriana		
<i>Mentha piperita</i>	Hoja		Flavonoides, ácidos fenólicos, compuestos volátiles, lignanos, estilbenos	Inhibe la adhesión de <i>S. mutans</i> y la formación de biopelículas dentales		
<i>Carica papaya</i>	Fruto	Maceración	Flavonoides, fenoles y terpenos	Descomposición del glucano		
<i>Propolis</i>	Resina	Maceración	Resinas, aceites esenciales, ceras, vitaminas, minerales, flavonoides, fenoles y terpenos	Immunomodulador		
<i>Melaleuca alternifolia</i>	Hoja	Maceración	Terpinen-4-ol y 1,8-cineol			
<i>Thymus vulgaris</i>	Hoja	Maceración	Polifenoles: timol y carvacrol			
<i>Cistus incanus</i>	Hoja	Soxhlet	Polifenoles, flavonoides, taninos y catequinas	Inhibe la adherencia		(Flemming et al., 2021)
<i>Inula viscosa</i>			Flavonoides, luteolina y apigenina			

					bacteriana a la superficie dental	
Aceites esenciales (AEs) <i>Peperomia pellucida</i> , <i>Piper marginatum</i> , <i>Piper callosum</i>	Hoja	Hidrodestilación	Monoterpenos Fenilpropanoides Sesquiterpenos y arilpropanoides		Alteración de la pared celular Inhibición de la actividad enzimática Formación de biopelículas	(Carvalho et al., 2022)

<i>Verbascum speciosum</i>	Flor y parte aérea	Maceración	Flavonoides		Inhibe la síntesis de glucano de las enzimas glucosiltransferasas (Gtfs)	(Pourmoslemi et al., 2023)
----------------------------	--------------------	------------	-------------	--	--	----------------------------

In vivo

Plantas medicinales	Parte de la planta utilizada	Método de extracción	Composición fitoquímica de los extractos	Mecanismo de acción	Formas de preparación	Referencias
<i>C. sinensis</i>	Hoja	Soxhlet	Flavonoides y fenoles	Inhibición de la actividad enzimática microbiana	Enjuague bucal	(Ancuceanu et al., 2019)
<i>Terminalia chebula</i>	Fruto		Taninos y polifenoles	Inhibición de la enzima Gtf	Enjuague bucal	
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Raíz	Destilación en seco	Glicirricol A	Bactericida	Paleta	
<i>T. chebula</i>	Fruto	Soxhlet	Taninos	Inhibición de la enzima Gtf de <i>S. mutans</i>	Enjuague bucal	(Mandava et al., 2019)
<i>Psidium guajava</i>	Hoja		Flavonoides y taninos			
<i>Azadirachta indica</i>	Rama		Terpenoides			
<i>Pongamia pinnata</i>	Rama		Isoflavonas			
<i>S. aromaticum</i>	Aceite esencial (AEs)		Fenoles			
<i>M. piperita</i>	AEs		Flavonoides			

<i>S. aromaticum</i>	Yema floral				Alteración de la composición estructural de la membrana y pared celular bacteriana	Pasta dental	(Oluwasina <i>et al.</i> , 2019)
<i>Dennettia tripetala</i>	Fruto	Soxhlet	Alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos y fenoles				
<i>Jatropha curcas</i>	Hoja						
<i>Copaifera langsdorffii</i>	Aceite resina	Destilación al vapor	Sesquiterpenos		Bactericida	Barniz dental	(Valadas <i>et al.</i> , 2019)
<i>Teucrium polium</i>	Flores	Destilación al vacío	Fenoles y taninos		Inhibición de la actividad enzimática microbiana	Enjuague bucal	(Khoramian Tusi <i>et al.</i> , 2020)
<i>Salvadora persica</i> (AEs) (Miswak)	Tallo	Hidrodestilación	Monoterpenos y sesquiterpenos				
<i>Asparagus racemosus</i>	Raíz	Disolventes	Borneol		Inhibición de la formación de biopelícula dental	Pasta dental	(Kumar <i>et al.</i> , 2021)
<i>Streblus asper</i>	Hoja-Tallo		Flavonoides y lignanos				
<i>Rosmarinus officinalis</i> (AEs)	Hoja	Hidrodestilación	Borneol, alcanfor, limoneno, pineno, cineol y mirceno				
<i>Piper crocatum</i>	Hoja	Reflujo	Terpenoides y sesquiterpenos		Interfieren en el proceso de biosíntesis de la pared celular, reducción de las reservas intracelulares de ATP, disminución del pH celular, absorción y penetración a las células bacterianas	Enjuague bucal	(Heliawati <i>et al.</i> , 2022)
<i>S. persica</i>	Tallo	Hidrodestilación	Isotiocinato de bencilo		Inhibe la adhesión de <i>S. mutans</i>	Pasta dental	(Shalan & El-Rashidy, 2023)

Elgamaly *et al.* en 2019, investigaron la eficacia antibacteriana de cinco extractos de plantas *C. zeylanicum*, *C. longa*, *Z. officinale*, *S. aromaticum* y *N. sativa* sobre el crecimiento de *S. mutans*. El extracto metanólico de *canela* y *clavo* tiene una

actividad antimicrobiana considerable contra *S. mutans* y una nueva herramienta para las vías de odontología mínimamente invasiva y adhesiva (Elgamaly *et al.*, 2019).

Milutinovici *et al.* en 2021 realizaron un examen de las plantas más utilizadas en el campo odontológico, especialmente sobre los fitocompuestos activos, tanto en términos de estructura química como de mecanismo de acción. La mayoría de estos estudios se centraron en evaluar *in vitro* e *in vivo* el efecto antimicrobiano de *A. sativum*, *A. vera*, *C. sinensis*, *C. aurantifolia*, *C. nucifera*, *C. longa*, *G. glabra*, *extracto de semilla de uva*, *H. perforatum*, *M. piperita*, *C. papaya*, *Propóleo*, *M.alternifolia* y *T. vulgaris* sobre *S. mutans*. Los investigadores concluyeron que la ventaja de utilizar extractos naturales se deriva del efecto sinérgico de los compuestos existentes en las plantas que potencian su actividad provocando un efecto terapéutico mejorado, sin embargo, los compuestos naturales también deben ser analizados en combinación con otros fitocompuestos, así como con los fármacos convencionales utilizados actualmente en la terapia para observar con más detalle el efecto sinérgico entre ellos. Así pues, las plantas medicinales y sus compuestos representan una alternativa prometedora e interesante a la terapia convencional (Milutinovici *et al.*, 2021).

El grupo de Flemming *et al.* en 2021, analizó diferentes polifenoles, y su estructura e interacciones con la superficie dental y la biopelícula. Los polifenoles son sustancias naturales que han demostrado proporcionar diversos beneficios para la salud. Se han descrito efectos antioxidantes, antiinflamatorios y anticancerígenos. En particular, los efectos de diversos polifenoles del té como *C. incanus* e *I.viscosa* confirman que los polifenoles pueden reducir el crecimiento de bacterias cariogénicas (Flemming *et al.*, 2021).

Carvalho *et al.* en 2022, evaluaron la actividad anticariogénica de tres AEs de *Piperaceae* brasileñas, *P. pellucida*, *P. marginatum* y *P. callosum*. Los resultados presentados sugirieron el posible uso de los AEs de piperáceas brasileñas en productos de salud bucal para el tratamiento de la caries dental, lo que enfatiza su gran potencial de aplicación comercial en fitomedicamentos. Sin embargo, son necesarios ensayos de citotoxicidad para reforzar la seguridad de su uso en productos farmacéuticos (Carvalho *et al.*, 2022).

Pourmoslemi *et al.* en 2023, evaluaron la actividad anticariogénica de *V. speciosum*, en busca de nuevos agentes para la prevención y tratamiento de la caries dental. Los resultados demostraron que el extracto floral de *V. speciosum* posee una fuerte actividad anticariogénica. Concretamente, este efecto puede atribuirse a la actividad antibacteriana contra *S. mutans* y la inhibición de la síntesis de glucano por las enzimas GTF presentes en estos microorganismos. Este extracto puede considerarse una alternativa a las terapias anticaries actuales o un aditivo de los productos para el cuidado dental (Pourmoslemi *et al.*, 2023).

Ancuceanu *et al.* en 2019, analizaron más de 56 ensayos clínicos que evaluaban el uso potencial de productos herbales en la prevención de la caries. La mayoría de ellos se centraron en evaluar los efectos antimicrobianos de los productos probados, principalmente sobre *S. mutans*. Entre las especies investigadas, las más estudiadas fueron *C. sinensis* L. Kuntze, *T. chebula* Retz y *G. uralensis* Fisch. El enjuague bucal fue la forma de dosificación más utilizada, mientras que los dentríficos y otras formas de dosificación se emplearon mucho menos. Este estudio concluyó que de los ensayos revisados, el 85.71% informaron resultados positivos, pero dado a los fallos metodológicos y los sesgos que los afectan, es difícil concluir sobre la eficacia de estos productos basándose en los estudios publicados hasta el momento (Ancuceanu *et al.*, 2019).

En 2019, Mandava *et al.* realizaron un estudio para evaluar el efecto anticaries de diferentes plantas medicinales contra las glucosiltransferasas (gtf) de *S. mutans*. Se seleccionaron como muestras de ensayo un total de seis fuentes naturales denominadas *T. chebula*, *P.guajava*, *A. indica* y *P. pinnata*; dos aceites esenciales, clavo (*S. aromaticum*) y aceite de menta (*M. piperita*). Se examinó el potencial inhibitorio de los extractos hidroalcohólicos de plantas y aceites esenciales sobre la gtf aislada de *S. mutans*. Se preparó un enjuague bucal a base de plantas y se comparó su efecto sobre la actividad de la gtf con el enjuague bucal comercial con clorhexidina (5% *p/v*). Todas las muestras mostraron una considerable acción inhibitoria de la gtf. Además, el enjuague bucal polihierbal preparado a partir de los cuatro extractos de plantas y dos aceites esenciales mostró una inhibición predominante de la gtf del 95.93% en comparación con el 54% mostrado por el enjuague bucal de clorhexidina y podría ser la futura formulación para combatir la caries dental (Mandava *et al.*, 2019).

El grupo de Oluwasina *et al.* en 2019 formularon dentífricos a partir de las plantas medicinales *S. aromaticum*, *D. tripetala*, y látex de *J. curcas*. El análisis fitoquímico de *S. aromaticum* y *D. tripetala* reveló la presencia de fenoles, flavonoides, alcaloides y saponinas. El principal constituyente de las plantas según el análisis por cromatografía de gases con espectrómetro de masas fue eugenol, cariofileno y fenol, 2-metoxi-4-(2-propenil)-, acetato de *S. aromaticum*, mientras que *D. tripetala* tenía ácido glutárico, eugenol, cariofileno y 1,6,10-dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimetil-(E). Llegaron a la conclusión de que los dentífricos formulados tenían un efecto antimicrobiano mejor y significativo ($P < 0,05$) en comparación con los dentífricos comerciales, y mostraban una potente propiedad antimicrobiana contra los patógenos probados, incluido *S. mutans*, debido a los compuestos bioactivos que contenían (Oluwasina *et al.*, 2019).

Valadas *et al.* en 2019 evaluaron la concentración antimicrobiana óptima de aceite-resina de *C. langsdorffii* (copaiba), en forma de barniz dental, contra *S. mutans* en niños. Concluyeron que la resina oleosa de copaiba, en forma de barniz dental, tiene actividad antimicrobiana contra *S. mutans*. El uso de barniz de copaiba podría ser una buena estrategia de prevención para niños de entre 3 y 5 años y justifica la realización de ensayos clínicos aleatorizados adicionales para identificar su eficacia antimicrobiana y su efecto anticaries. Sin embargo, se requieren más estudios para identificar la actividad a largo plazo y el efecto anticaries de este barniz para establecer su uso en la prevención de la caries (Valadas *et al.*, 2019).

En 2020, Khoramian-Tusi *et al.* formularon un enjuague bucal que contenía el extracto acuoso de la hierba *T. polium* para determinar el efecto sobre *S. mutans* en la boca. Los resultados de la investigación indicaron que el extracto acuoso de *T. polium* reduce significativamente la colonización de *S. mutans* en la saliva humana. Esta disminución fue visible incluso después de tres semanas de periodo de su uso. En general, puede concluirse que el uso de enjuague bucal de *T. polium*, de forma periódica, puede reducir el riesgo de caries (Khoramian-Tusi *et al.*, 2020).

Kumar *et al.* en 2021 analizaron el papel de los metabolitos secundarios antioxidantes en la inhibición del crecimiento de patógenos orales y en la reducción de la formación de biopelícula dental, así como en la reducción de los síntomas de las enfermedades orales. De acuerdo con las pruebas presentadas en esta revisión, los aceites esenciales antioxidantes tienen el potencial de ser utilizados como agentes preventivos o terapéuticos para una variedad de enfermedades orales. Aunque se han identificado muchos de los usos potenciales de los aceites esenciales antioxidantes y muchos informes de eficacia terapéutica se han validado adecuadamente mediante pruebas *in vitro* o ensayos clínicos *in vivo*, se necesita más investigación para determinar la seguridad y eficacia de estos aceites esenciales antioxidantes antes de que se utilicen en la práctica clínica (Kumar *et al.*, 2021).

En 2022, Heliawati *et al.* en un análisis de revisión de 23 estudios sobre la hoja de betel rojo (*P. crocatum*) documentaron su potencial para ser utilizada como agente antibacteriano natural en el tratamiento de problemas de salud dental y bucal. Tradicionalmente ha sido útil para curar enfermedades como las aftas y el dolor de muelas. Por cromatografía se sabe que la hoja de *P. crocatum* contiene metabolitos secundarios como compuestos flavonoides, compuestos polifenólicos, taninos y aceites esenciales, donde los flavonoides son conocidos por ser inhibidores del crecimiento de *S. mutans*. La decocción de hojas de betel rojo, que es un antiséptico puede actuar como enjuague bucal, previniendo el mal aliento (Heliawati *et al.*, 2022).

En 2023, Shaalan *et al.* evaluaron el efecto antibacteriano de la pasta dentrífica a base de hierbas Miswak en comparación con la pasta dentrífica con flúor en pacientes con alto riesgo de caries. El dentrífico Miswak demostró un efecto antibacteriano similar contra *S. mutans* en comparación con el dentrífico fluorado. Sin embargo, la liberación de iones de la pasta dentrífica de miswak fue significativamente inferior a la de la pasta dentrífica con flúor. Por lo tanto, la pasta dentrífica a base de hierbas de Miswak posee un potente efecto antibacteriano, pero su potencial de remineralización es cuestionable debido a su menor liberación de iones, que afectará a la sustantividad iónica en la saliva, factor importante en la remineralización (Shaalan & El-Rashidy, 2023).

4. Discusión y conclusiones

El reino vegetal y su uso medicinal sigue siendo una práctica común en los seres humanos (Milutinovici *et al.*, 2021). Las plantas medicinales desempeñan un papel importante en las aplicaciones de la etnomedicina (Heliawati *et al.*, 2022). De hecho, se ha demostrado que las hierbas medicinales poseen una amplia y específica gama de propiedades biológicas que incluyen efectos antimicrobianos, antioxidantes y antiinflamatorios a nivel oral y sistémico (Isola, 2020). Debido a

la necesidad de encontrar nuevas alternativas terapéuticas en el campo odontológico, las plantas y compuestos de origen natural representan un verdadero interés debido a su alta eficacia y baja toxicidad. Una de las actividades biológicas más importantes que presentan los fitocompuestos es la acción antibacteriana, útil en el tratamiento de la mayoría de los problemas de salud bucal. Una ventaja de las plantas medicinales es que tienen un mecanismo de acción antibacteriano complejo, por lo que disminuye la resistencia de las bacterias (Milutinovici *et al.*, 2021).

Las plantas medicinales muestran resultados prometedores como tratamiento de la caries dental (Moghadam *et al.*, 2020). La ventaja de utilizar extractos naturales se deriva del efecto sinérgico de los compuestos existentes en las plantas que potencian su actividad causando un efecto terapéutico mejorado. Así pues, las plantas medicinales siguen siendo un campo digno de estudio debido a sus numerosas propiedades beneficiosas para la salud humana y a sus escasos efectos secundarios en comparación con la terapia convencional. Los compuestos naturales también deben analizarse en combinación con otros fitocompuestos, así como con los fármacos convencionales utilizados actualmente en la terapia para observar con más detalle el efecto sinérgico entre ellos. Los fitocompuestos pueden provocar reacciones adversas graves que merecen especial atención tanto por parte de los odontólogos como de los pacientes. Es de verdadera importancia que en la terapia que se vaya a utilizar se conozca con exactitud el origen de las plantas medicinales y, en el caso de los compuestos aislados de plantas, se realice un control cuantitativo y cualitativo adecuado. En el futuro, la investigación deberá dirigirse a los países desarrollados, en donde la tasa de resistencia bacteriana y vírica es cada vez mayor, y los daños dentales constituyen un importante problema de salud (Milutinovici *et al.*, 2021).

Por lo tanto, existe una necesidad urgente de aumentar los esfuerzos de investigación y la financiación destinada a ensayos clínicos sobre la eficacia, seguridad, rentabilidad y caracterización de estos compuestos naturales. El mayor reto y problema es la falta de información sobre los efectos de las hierbas en los tejidos orales, el mecanismo de acción y sus efectos secundarios (Amanpour *et al.*, 2023). Sin embargo, por otro lado, diversos estudios en el ámbito oral que han analizado las acciones de fármacos tradicionales y fitoterapéuticos han arrojado resultados inciertos que requieren poblaciones a gran escala para ser validados (Isola, 2020). La terapia alternativa y a base de plantas puede ser útil para las personas de todo el mundo, especialmente en países con recursos limitados (Moghadam *et al.*, 2020). Este hallazgo científico es información útil para la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos con el fin de encontrar nuevos agentes antimicrobianos potenciales (Heliawati *et al.*, 2022).

5. Agradecimientos

Un agradecimiento al Programa de Apoyo a la Ciencia, Tecnología e Innovación (ProACTI-UANL) por apoyar esta investigación y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo financiero a través de la beca posdoctoral del programa "Estancias posdoctorales por México".

6. Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

7. Referencias

1. Amanpour, S., Javar, M. A., Sarhadinejad, Z., Doustmohammadi, M., Moghadari, M., & Sarhadynejad, Z. (2023). A systematic review of medicinal plants and herbal products' effectiveness in oral health and dental cure with health promotion approach. *Journal of Education and Health Promotion*, 12, 306. https://doi.org/10.4103/jehp.jehp_1297_22
2. Ancuceanu, R., Anghel, A. I., Ionescu, C., Hovaneț, M. V., Cojocaru-Toma, M., & Dinu, M. (2019). Clinical trials with herbal products for the prevention of dental caries and their quality: A Scoping Study. *Biomolecules*, 9(12), 884. <https://doi.org/10.3390/biom9120884>
3. Ben-Zaken, H., *et al.* (2021). Isolation and Characterization of *Streptococcus mutans* Phage as a Possible Treatment Agent for Caries. *Viruses*, 13(5), 825. <https://doi.org/10.3390/v13050825>
4. Carvalho, Ê. S., *et al.* (2022). Anticariogenic Activity of Three Essential Oils from Brazilian Piperaceae. *Pharmaceuticals*, 15(8), 972. <https://doi.org/10.3390/ph15080972>
5. Chatzopoulos, G. S., Karakostas, P., Kavakoglou, S., Assimopoulou, A., Barmpalexis, P., & Tsalikis, L. (2022). Clinical Effectiveness of Herbal Oral Care Products in Periodontitis Patients: A Systematic Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(16), 10061. <https://doi.org/10.3390/ijerph191610061>
6. Chen, X., Daliri, E. B., Kim, N., Kim, J.R., Yoo, D., & Oh, D.H. (2020). Microbial Etiology and Prevention of Dental Caries: Exploiting Natural Products to Inhibit Cariogenic Biofilms. *Pathogens*, 9(7), 569. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070569>

7. Coelho-Dos Santos, D., Silva-Barboza, A. D., Ribeiro, J. S., Rodrigues-Junior, S. A., Campos, Â. D., & Lund, R. G. (2022). *Bixa orellana* L. (Achiote, Annatto) as an antimicrobial agent: A scoping review of its efficiency and technological prospecting. *Journal of Ethnopharmacology*, 287, 114961. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114961>
8. Elgamily, H., Safy, R., & Makharita, R. (2019). Influence of Medicinal Plant Extracts on the Growth of Oral Pathogens *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: An In-Vitro Study. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(14), 2328–2334. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.653>
9. Eltay, E. G., Gismalla, B. G., Mukhtar, M. M., & Awadelkarim, M. O. A. (2021). *Punica granatum* peel extract as adjunct irrigation to nonsurgical treatment of chronic gingivitis. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 43, 101383. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2021.101383>
10. Flemming, J., Meyer-Probst, C. T., Speer, K., Kölling-Speer, I., Hannig, C., & Hannig, M. (2021). Preventive Applications of Polyphenols in Dentistry—A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4892. <https://doi.org/10.3390/ijms22094892>
11. Grabek-Lejko, D., & Hyrczel, T. (2023). The Antibacterial Properties of Polish Honey against *Streptococcus mutans*—A Causative Agent of Dental Caries. *Antibiotics*, 12(11), 1640. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111640>
12. Heliawati, L., Lestari, S., Hasanah, U., Ajiati, D., & Kurnia, D. (2022). Phytochemical Profile of Antibacterial Agents from Red Betel Leaf (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) against Bacteria in Dental Caries. *Molecules*, 27(9), 2861. <https://doi.org/10.3390/molecules27092861>
13. Isola G. (2020). Current Evidence of Natural Agents in Oral and Periodontal Health. *Nutrients*, 12(2), 585. <https://doi.org/10.3390/nu12020585>
14. Khoramian-Tusi, S., Jafari, A., Marashi, S. M. A., Faramarzi-Niknam, S., Farid, M., & Ansari, M. (2020). The effect of antimicrobial activity of *Teucrium polium* on Oral *Streptococcus Mutans*: A randomized cross-over clinical trial study. *BMC Oral Health*, 20(1), 130. <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01116-4>
15. Kumar, M., et al. (2021). Beneficial Role of Antioxidant Secondary Metabolites from Medicinal Plants in Maintaining Oral Health. *Antioxidants*, 10(7), 1061. <https://doi.org/10.3390/antiox10071061>
16. Mandava, K., Batchu, U. R., Kakulavaram, S., Repally, S., Chennuri, I., Bedarakota, S., & Sunkara, N. (2019). Design and study of anticaries effect of different medicinal plants against *S. mutans* glucosyltransferase. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 197. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2608-3>
17. Milia, E. P., Sardellitti, L., & Eick, S. (2023). Antimicrobial Efficiency of *Pistacia lentiscus* L. Derivates against Oral Biofilm-Associated Diseases—A Narrative Review. *Microorganisms*, 11(6), 1378. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061378>
18. Milutinovici, R. A., et al. (2021). Vegetal Compounds as Sources of Prophylactic and Therapeutic Agents in Dentistry. *Plants*, 10(10), 2148. <https://doi.org/10.3390/plants10102148>
19. Moghadam, E. T., et al. (2020). Current herbal medicine as an alternative treatment in dentistry: *In vitro*, *in vivo* and clinical studies. *European Journal of Pharmacology*, 889, 173665. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173665>
20. Mosaddad, S. A., Tahmasebi, E., Yazdani, A., Rezvani, M. B., Seifalian, A., Yazdani, M., & Tebyanian, H. (2019). Oral microbial biofilms: an update. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38(11), 2005–2019. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03641-9>
21. Oluwasina, O. O., Ezenwosu, I. V., Ogidi, C. O., & Oyetayo, V. O. (2019). Antimicrobial potential of toothpaste formulated from extracts of *Syzygium aromaticum*, *Dennettia tripetala* and *Jatropha curcas* latex against some oral pathogenic microorganisms. *AMB Express*, 9(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0744-2>
22. Pitts, N. B., Twetman, S., Fisher, J., & Marsh, P. D. (2021). Understanding dental caries as a non-communicable disease. *British Dental Journal*, 231(12), 749–753. <https://doi.org/10.1038/s41415-021-3775-4>
23. Pourmoslemi, S., Larki-Harchegani, A., Daneshyar, S., Dastan, D., Nili-Ahmadabadi, A., & Jazaeri, M. (2023). Antibacterial and Anti-Glucosyltransferase Activity of *Verbascum speciosum* Against Cariogenic Streptococci. *Journal of Pharmacopuncture*, 26(2), 139–146. <https://doi.org/10.3831/KPI.2023.26.2.139>
24. Sedigh-Rahimabadi, M., Fani, M., Rostami-chijan, M., Zarshenas, M. M., & Shams, M. (2017). A Traditional Mouthwash (*Punica granatum* var pleniflora) for Controlling Gingivitis of Diabetic Patients: A Double-Blind Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 22(1), 59–67. <https://doi.org/10.1177/2156587216633370>
25. Shaalan, O., & El-Rashidy, A. (2023). Antibacterial Effect of Miswak herbal toothpaste Compared to Fluoride Toothpaste in High Caries Risk Patients: Randomized Clinical Trial. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 15(7), e526–e534. <https://doi.org/10.4317/jced.60332>
26. Sharma, A., et al. (2022). *Carica papaya* L. Leaves: Deciphering Its Antioxidant Bioactives, Biological Activities, Innovative Products, and Safety Aspects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2451733. <https://doi.org/10.1155/2022/2451733>
27. Takenaka, S., Ohsumi, T., & Noiri, Y. (2019). Evidence-based strategy for dental biofilms: Current evidence of mouthwashes on dental biofilm and gingivitis. *Japanese Dental Science Review*, 55(1), 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2018.07.001>
28. Valadas, L. A. R., et al. (2019). Dose-response evaluation of a copaiba-containing varnish against *Streptococcus mutans* *in vivo*. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(3), 363–367. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.12.004>
29. Wolfviz-Zilberman, A., Kraitman, R., Hazan, R., Friedman, M., Hourri-Haddad, Y., & Beyth, N. (2021). Phage targeting *Streptococcus mutans* *In Vitro* and *In Vivo* as a Caries-Preventive Modality. *Antibiotics*, 10(8), 1015. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10081015>

30. Yang, S. Y., Choi, Y. R., Lee, M. J., & Kang, M. K. (2020). Antimicrobial Effects against Oral Pathogens and Cytotoxicity of *Glycyrrhiza uralensis* Extract. *Plants*, 9(7), 838. <https://doi.org/10.3390/plants9070838>
31. Yang, S. Y., & Kang, M. K. (2020). Biocompatibility and Antimicrobial Activity of *Reynoutria elliptica* Extract for Dental Application. *Plants*, 9(6), 670. <https://doi.org/10.3390/plants9060670>
32. Zhu, Y., et al. (2023). Association of polymicrobial interactions with dental caries development and prevention. *Frontiers in Microbiology*, 14, 116280. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1162380>

Descargo de responsabilidad/Nota del editor: Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones son responsabilidad exclusiva de los autores y colaboradores individuales y no de SAV y/o el/lo editor/es declinan toda responsabilidad por daños personales o materiales derivados de ideas, métodos, instrucciones o productos a los que se haga referencia en el contenido.

Cita: Gloria-Garza, M. A., Quintanilla-Licea, R., Reyna-Martínez, G. R., & Elizondo-Luevano, J. H. (2024). Explorando el potencial antimicrobiano de plantas medicinales contra la caries dental: Plantas medicinales contra la caries. *Scientia Agricolis Vita*, 1(2), 1–12. <https://doi.org/10.29105/agricolis.v1i2.10>

Editor Académico: Guadalupe Gutiérrez Soto

Recibido: fecha

Revisado: fecha

Aceptado: fecha

Publicado: fecha 31-05-24



Copyright: © 2024 por los autores. Presentado para su posible publicación en acceso abierto bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Artículo de Revisión

Edición de Genes y CRISPR-Cas: Aplicaciones, Avances y Desafíos

Joel Horacio Elizondo-Luevano ^{1,2,*}, Lizeth Aniram García-Sotelo ², Iván Eliot Cárdenas-Paredes ², Vanessa de Dios-Romero ², Carolina Villanueva-Terán ², y Miroslava Kačániová ^{3,4,*}

¹ Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, Campus Miguel de Unamuno S/N, 37007, Salamanca, España; jelizondo@usal.es (J.H.E.-L.).

² Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México; joel.elizondolv@uanl.edu.mx (J.H.E.-L.); lizeth.garciastl@uanl.edu.mx (L.A.G.-S.); ivan.cardenaspr@uanl.edu.mx (I.E.C.-P.); vanessa.dediosmr@uanl.edu.mx (V.D.-R.); carolina.villanuevatr@uanl.edu.mx (C.V.-T.)

³ Instituto de Horticultura, Facultad de Horticultura e Ingeniería de Paisaje, Universidad Eslovaca de Agricultura, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Eslovaquia; miroslava.kacaniova@gmail.com (M.K.)

⁴ Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Universidad de Ciencias Económicas y Humanas de Varsovia, Okopowa 59, 01 043 Varsovia, Polonia; m.kcaniova@vizja.pl (M.K.)

* Correspondencia: J.H.E.-L. & M.K.

Resumen: La tecnología CRISPR-Cas es una herramienta efectiva para la edición de genes. Se realizó una revisión de literatura en bases de datos (Google Académico, PubMed, Scielo y Science Direct), abarcando los años 2011 a 2024, utilizando palabras clave como 'Ingeniería genética', 'Agricultura' y 'CRISPR-Cas'. El método CRISPR-Cas9 emplea dos tipos de RNA y una endonucleasa Cas, que corta el ADN extraño y lo añade a la secuencia CRISPR como espaciadores. La secuencia CRISPR se transcribe en crARN y tracrARN, formando el complejo gARN. El sistema CRISPR se introduce en la célula mediante plásmidos, ARN o ribonucleoproteínas, y una secuencia objetivo permite que el CRISPR-Cas9 entre al núcleo. Este método es útil para la edición de genes específicos de interés científico y biotecnológico.

Palabras Clave: Ingeniería genética, CRISPR, Agricultura, ARN guía, PAM.

Gene Editing and CRISPR-Cas: Applications, Advances and Challenges

Abstract: The CRISPR-Cas technology is an effective tool for gene editing. A literature review was conducted in databases (Google Scholar, PubMed, Scielo, and Science Direct), covering the years 2011 to 2024, using keywords like 'Genetic Engineering', 'Agriculture', and 'CRISPR-Cas'. The CRISPR-Cas9 method uses two types of RNA and a Cas endonuclease, which cuts foreign DNA and adds it to the CRISPR sequence as spacers. The CRISPR sequence is transcribed into crRNA and tracrRNA, forming the gRNA complex. The CRISPR system is introduced into the cell via plasmids, RNA, or ribonucleoproteins, and a target sequence allows CRISPR-Cas9 to enter the nucleus. This method is useful for editing specific genes of scientific biotechnology interest.

Keywords: Genetic engineering, CRISPR, Agriculture, guide RNA, PAM.

1. Introducción

La edición del genoma ha impactado en investigaciones sobre todo en biología, gracias a la nueva capacidad de editar genomas específicos en seres vivos; En la última década, se han explorado múltiples herramientas de ingeniería genética para editar desde genomas complejos hasta simples. Una herramienta que ha cobrado importancia es el CRISPR-Cas; utilizado en genética por poseer características como: Alta eficiencia, facilidad de uso y especificidad. Además de utilizarse para agregar alelos deseables y eliminar alelos indeseables simultáneamente de manera conjunta (Manghwar et al., 2019). En esta revisión sistemática, se analizarán las aplicaciones actuales, los avances recientes y los desafíos en el campo de la edición de genes utilizando CRISPR-Cas, con un enfoque particular en la agricultura.

El sistema CRISPR-Cas9 es utilizado en la edición del genoma guiada por ARN que consta de una nucleasa Cas9 y un ARN de guía única (sgARN). Al emparejar bases con una secuencia objetivo de ADN el sgARN permite a la endonucleasa Cas9 reconocerla y cortar una secuencia de ADN objetivo determinada, generando rupturas de doble hebra y se activa mecanismos de reparación celular y mutaciones en las rupturas de doble hebra o cerca de ellos (Bao et al., 2019).

La edición genética abarca diversas áreas de investigación, y gracias a la herramienta CRISPR-Cas las aplicaciones se vieron expandidas en las múltiples competencias. Dichas aplicaciones abarcan áreas como medicina, producción agropecuaria, microbiología e industria alimentaria. Específicamente la herramienta CRISPR-Cas9 permite modificar la secuencia de ADN para mejorar las expresiones genéticas o fenotipos de organismos vivos, lo que lo convierte en una metodología vital para la investigación de la función genética, modificación de caracteres y la producción de nuevas sustancias vitales (Zhu, 2022).

En el área de producción vegetal, se considera esta herramienta como un sustituto a los métodos tradicionales debido a que el tiempo de obtención puede reducirse de meses a semanas y sólo se transfieren las propiedades deseadas. Suele aplicarse para mejorar el rendimiento de un cultivo de uso o consumo humano, así como añadir características de resistencia o tolerancia a condiciones de estrés abiótico y biótico (Herrera-Cabrera et al., 2021). Dicha edición genética se ha llevado a cabo con éxito en múltiples ejemplares como son *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), arroz (*Oryza sativa*) y trigo (*Triticum aestivum*) (Zhu, 2022).

Una de las limitaciones que tiene la edición del genoma en plantas es el proceso de transformación, por lo tanto, en los próximos años podría verse un número creciente de opciones para la edición del genoma de plantas sin ADN y evitando el cultivo de tejidos (Huang Holger Puchta et al., 2021). Recientemente, se logró un avance importante mediante la transformación mediada por *Agrobacterium* de un ADN-T con tres factores estimulantes del crecimiento, *Wus2*, *STM* e *ipt*, mientras que la edición se inducía simultáneamente. Por lo tanto, los brotes editados con el genoma podrían regenerarse a partir de plantas cultivadas en el suelo sin un paso de cultivo de tejidos (Maher et al., 2019).

Otro enfoque reciente con el objetivo de evitar el cultivo de tejidos ha sido la utilización de un vector de virus ARN del *virus del cascabel del tabaco* (Ellison et al., 2020). Los autores lograron la edición genética en las hojas infectadas y también encontraron frecuencias de edición más altas en las partes superiores de las plantas que en la infección inicial. Sin embargo, aunque CRISPR-Cas9 ha sido una gran herramienta que ha revolucionado la edición genética, se han abierto debates en los cuales se plantean preocupaciones y desafíos de esta. Algunas de las complicaciones que se han mostrado han sido los *off-target effects*, ya que esta tecnología no funciona siempre de manera específica, y puede afectar genes no deseados (Liang et al., 2019).

En un futuro muy cercano veremos mejoras importantes en nuestra caja de herramientas de edición del genoma. Esto nos permitirá proporcionar mejores herramientas para producir cultivos que necesiten utilizar menos pesticidas y que los cultivos sean más tolerantes al estrés ambiental debido al calentamiento global (Huang Holger Puchta et al.,

2021). Esta revisión sistemática proporcionará una visión completa y actualizada de la tecnología CRISPR-Cas y su aplicación en la agricultura, destacando tanto sus logros recientes como los desafíos pendientes y las futuras direcciones de investigación. En el marco metodológico de esta revisión, elementos para la investigación clave se entiendan aspectos de CRISPR-Cas9 que son fundamentales, así como la identificación de sus aplicaciones en la agricultura con el fin de evaluar el estado actual del conocimiento de CRISPR-Cas9.

2. Métodos

La búsqueda de la literatura se realizó en marzo del 2024, sin restricción de fecha ni de idioma, en las bases de datos especializadas Pubmed, Embase, Scielo, Science Direct, MDPI, Frontiers, Springer Link y en las siguientes fuentes complementarias en búsqueda de literatura motores de búsqueda genéricos (Google y Google Académico). Es una estrategia de búsqueda genérica con términos de lenguaje libre adaptada a diferentes fuentes de información, utilizando palabras clave como 'Ingeniería genética', 'Agricultura', 'ARN guía', 'CRISPR-Cas', entre otros. La búsqueda se limitó a artículos correspondientes al período 2011 al 2024.

3. Principios básicos de la tecnología CRISPR-Cas

3.1 Descripción de los componentes principales del sistema CRISPR-Cas

CRISPR-Cas, es un conjunto de secuencias de ADN encontradas en bacterias y arqueas, las cuales son parte de un sistema de inmunidad adaptativa que les permite defenderse de virus (Pickar-Oliver & Gersbach, 2019). La inmunidad adaptativa se dirige específicamente a agentes infecciosos, se caracteriza por ser capaz de adaptarse y recordar encuentros previos con patógenos específicos, esto permite una respuesta rápida y eficaz ante infecciones constantes (Blanchard et al., 2020). La característica que destaca el sistema CRISPR-Cas son las repeticiones idénticas de ADN que son separados regularmente por estructuras conocidas como espaciadores (Figura 1). El CRISPR es una secuencia pequeña cuenta con una longitud de 27 a 50 nt. Casi todos los sistemas tienen repeticiones de aproximadamente 30pb. Por lo general la secuencia repetida es palindrómica, y es capaz de formar una estructura llamada horquilla (Barrangou, 2013).

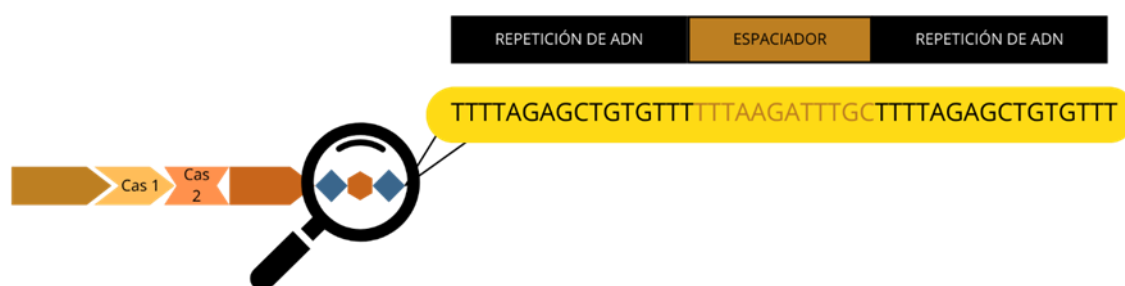


Figura 1. Diagrama general sobre el sistema CRISPR (Creado en Canva).

Están separados por secuencias únicas llamadas espaciadores, los espaciadores proceden de secuencias de genes de virus y plásmidos, Los proto espaciadores están enseguida de un motivo adyacente proto espaciador (PAM) conservado de corta longitud (2-5 nt) (Fineran & Charpentier, 2012). En la actualidad se clasifican los sistemas CRISPR-Cas de bacterias y arqueas por su estructura y las funciones de las proteínas Cas (Liu et al., 2020), (Figura 2).

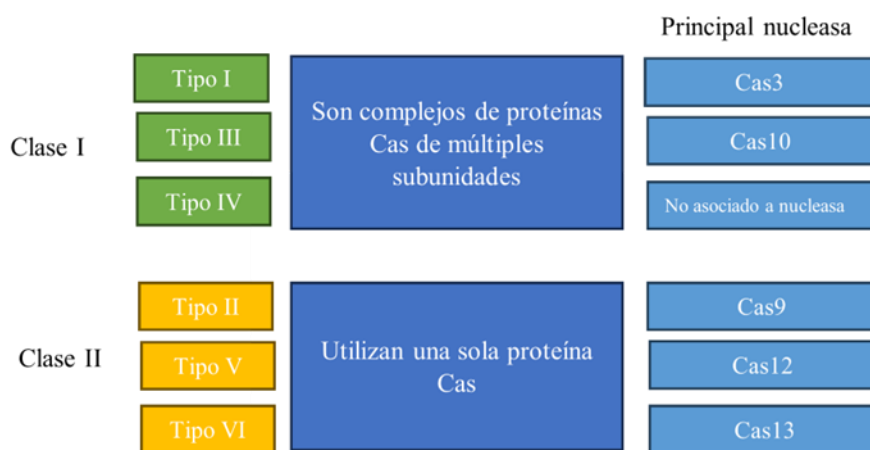


Figura 2. Clasificación de tipos de proteínas Cas (Creado en Canva).

Cas 1 y Cas 2 están presentes en los tipos de clasificación, su función está relacionada con la adquisición del espaciador. Específicamente Cas1 tiene actividad nucleasa en ADN de una sola hebra, uniones Holliday las cuales son un intermediario importante en la recombinación homóloga, este proceso favorece la diversidad genética al intercambiar genes de dos cromosomas, horquillas de replicación y en la formación de espaciadores (Barrangou, 2013) (Figura 3). La estructura de CRISPR/Cas9 es de tipo II es relevante y al estar clasificada en clase II y solo se utiliza una sola proteína Cas, facilitan el estudio de esta estructura (Mohr et al., 2016). Sistema CRISPR-Cas de Tipo II: el gen principal es el Cas9, cuya función es codificar una proteína multidominio y combinar todas las funciones de efectores con el corte de ADN diana fundamental para que se madure el crARN; endonucleasa de ADN guiada por ARN que se requiere para la interferencia y la inmunidad en sistemas de tipo II. Estudios han revelado que la unión del gARN regula la función de la proteína Cas9 al inducir un gran reacomodo de la proteína., hoy en día, Cas9 de *Streptococcus pyogenes* (*Sp Cas9*) es la proteína más estudiada y por lo tanto utilizada para la edición del genoma (Nozawa et al., 2011).

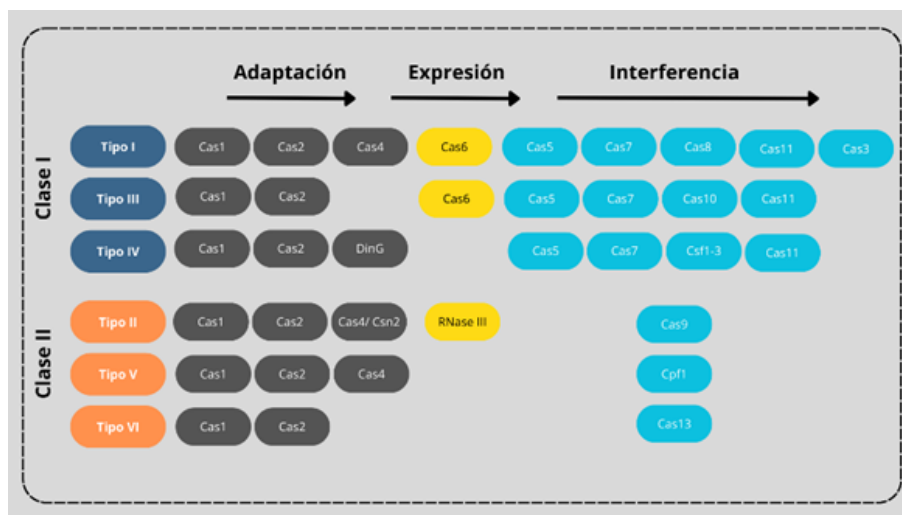


Figura 3. Proteínas Cas involucradas en las diversas etapas de CRISPR (Bhattacharya & Satpati, 2023).

Arquitectura de la proteína Cas9, cuenta con una longitud de 800 a 1,400 aminoácidos, contiene dos dominios homólogos a las endonucleasas HNH y RuvC fundamentales para realizar el corte del ADN diana (Jinek et al., 2012). Cas9 codifica una proteína que funciona en la biogénesis de crARN y el ADN diana. Los sistemas tipo II cuentan con el tracrARN que incluye una secuencia de 25 nt complementaria a la repetición CRISPR y posterior a eso se madura y procesa el crARN mediante una endoribonucleasa ARNseIII de mantenimiento que realiza el corte (Mendoza-Téllez et al., 2022). El sistema CRISPR-Cas9 es un complejo formado por ARN guía único formado por tracrARN y crARN, dicha

estructura sirve para realizar una edición en el genoma. La endonucleasa Cas9 unida a sgRNA busca el objetivo de doble hebra ADN mediante el escaneo de un proto espaciador de trinucleótidos corto adyacente motivo. El complejo Cas9 sgRNA se dirige al ADN en dos fases: El complejo Cas9 sgRNA se une transitoriamente al ADN de forma independiente de la secuencia en diversas ubicaciones a través de colisiones al azar para escaneo del PAM secuencia. Al llegar a la secuencia objetivo se une y el resto de los complejos se disgregan rápidamente de los que no son PAM, posterior a eso se inicia la fase de complementariedad del ADNt con sgRNA para la formación heterodúplex. (Barrangou, 2013).

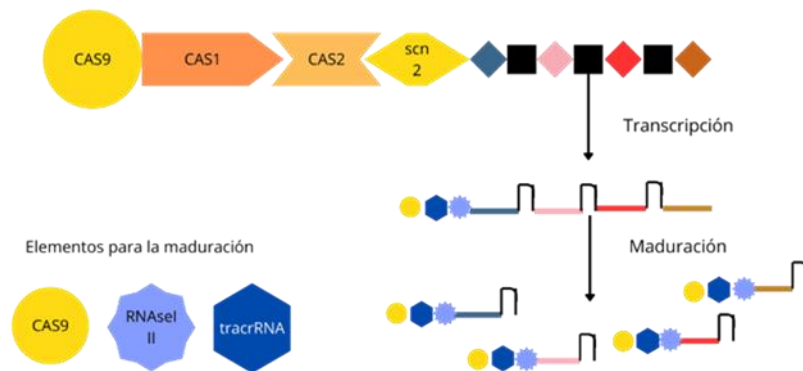


Figura 4. Mecanismo de acción de la proteína Cas9 (Creado en Canva).

3.2 Mecanismo de acción de CRISPR-Cas

El mecanismo mediado por CRISPR-Cas se divide en 3 etapas: adaptación, en cual se incorporan espaciadores en el locus CRISPR, expresión, donde el sistema se prepara para la acción expresando los genes Cas y transcribiendo el CRISPR en crARN maduro con la ayuda de proteínas Cas e interferencia, donde el ácido nucleico objetivo es reconocido y destruido mediante la acción combinada del crARN y proteínas Cas (Figura 5) (D. Rath et al., 2015).

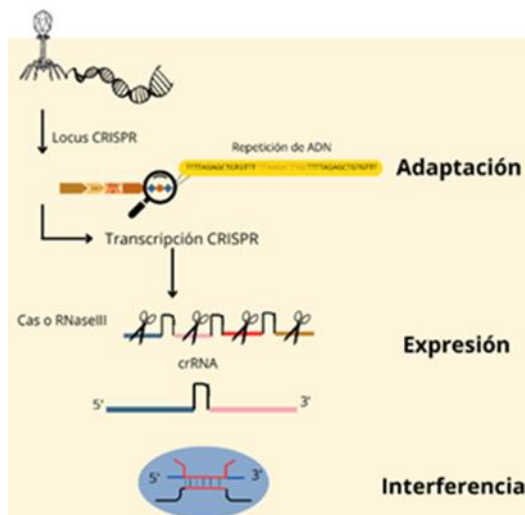


Figura 5. Inmunidad CRISPR-Cas 1 (Creado en Canva).

Adaptación: inserción de nuevos espaciadores en el locus CRISPR.

Expresión: transcripción del locus CRISPR y procesamiento del ARN CRISPR.

Interferencia: detección y degradación de elementos genéticos móviles mediante ARN CRISPR y proteínas Cas.

La edición del genoma mediante nucleasas CRISPR-Cas9 se basa en la reparación de rupturas de doble cadena de ADN (DSB). En células eucariotas, los DSB se reparan mediante dos mecanismos principales: la reparación dirigida por homología (HDR) y la unión de extremos no homólogos (NHEJ). Los cortes de doble cadena es uno de los daños más severos al ADN, estos pueden emerger por motivos exógenos y endógenos. Los DBS pueden provocar inestabilidad en los genes y pérdida de material genético incluso en eucariotas puede inactivarse genes de vital importancia, lo que ocasionaría inducir una muerte celular programada mediante apoptosis. Por suerte, las células cuentan con sistemas enzimáticos para reparar ADN si es necesario (Tafurt-Cardona & Marin-Morales, 2015).

- A. Reparación mediante recombinación homóloga HR:** Mecanismo que detecta y repara daños causados por agentes físicos, químicos y radicales libres, particularmente las rupturas de doble cadena (DSB) en la fase G2 del ciclo celular. Durante esta fase, el material genético se condensa y organiza, preparándose para la división celular, y la célula contiene el doble de material genético. La alta eficiencia de las reparaciones se debe a que las cromátidas hermanas que tienen información idéntica, se activan una serie de reacciones y proteínas de reparación que bloquean el ciclo celular (Tafurt-Cardona & Marin-Morales, 2015).
- B. Reparación por recombinación homóloga:** En eucariotas, las rupturas de doble cadena (DSB) son reconocidas por un complejo proteico llamado MRN, compuesto por RAD50, MRE11 y NBS1. Este complejo posee endonucleasas que degradan el ADN, generando cadenas sencillas (Tafurt-Cardona & Marin-Morales, 2015). La proteína RAD52 protege el ADN de las exonucleasas inespecíficas, y RAD51, en presencia de ATP, sintetiza un filamento de núcleo proteico que busca la secuencia homóloga y cataliza el intercambio y apareamiento de las cadenas junto con RAD52. Finalmente, se forma una estructura de cadenas entrecruzadas denominada intermediario de Holliday, completando el proceso de reparación (Figura 6) (Tafurt & Marín, 2015). A nivel molecular, se han identificado las proteínas XRCC2, XRCC3, RAD51B, RAD51C y RAD51, además de las quinasas ATR y ATM, que reconocen los DSB (Tafurt-Cardona & Marin-Morales, 2015).
- C. Reparación mediante extremos no homólogos:** En eucariotas, el sitio de corte es reconocido por las proteínas KU70 y KU80, que mantienen ambas cadenas de ADN unidas. Posteriormente, la ligasa IV repara la ruptura junto con el complejo XRCC4, que se une al extremo de ADN lesionado y une las cadenas (Figura 7) (Tafurt-Cardona & Marin-Morales, 2015).

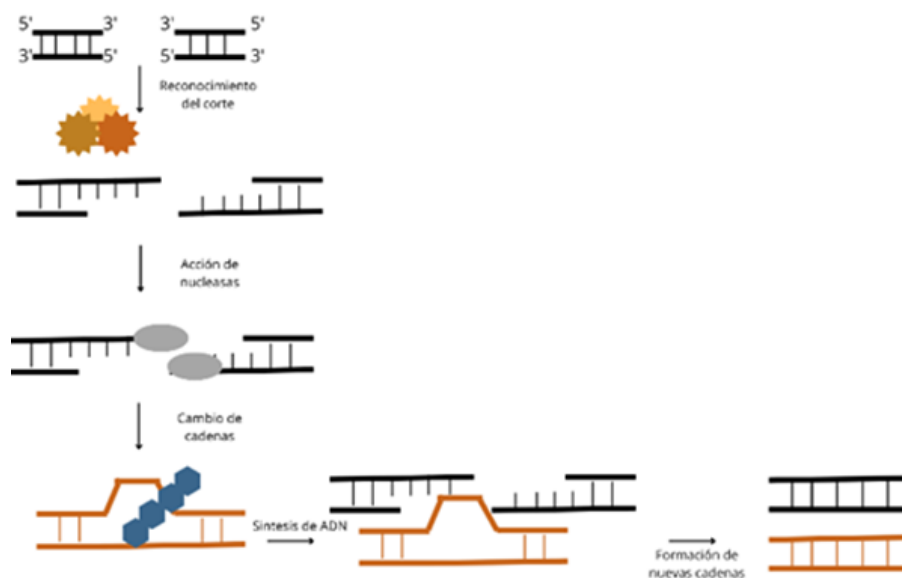


Figura 6. Representación de la reparación por recombinación homóloga (Tafurt-Cardona & Marin-Morales, 2015).

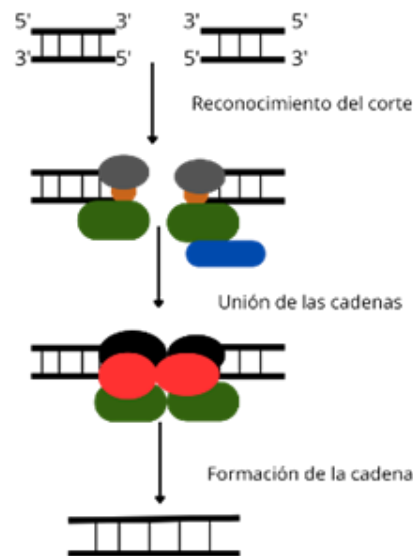


Figura 7. Reparación de ADN por extremos no homólogos (Tafurt-Cardona & Marin-Morales, 2015).

4. Aplicaciones de la edición de genes en agricultura

4.1 Incremento en el rendimiento

Múltiples factores afectan el rendimiento de los cultivos, incluyendo la manipulación de la homeostasis de las citoquininas. En *Oryza sativa* (arroz), la edición del dominio C terminal de LOGL5, que codifica una enzima activadora de citoquininas, ha mejorado el rendimiento del grano en diversas condiciones ambientales (C. Wang et al., 2020). Asimismo, la eliminación del gen que codifica la citoquinina oxidasa/deshidrogenasa (CKK), responsable de la degradación de citoquininas, ha generado fenotipos de alto rendimiento en trigo (Z. Zhang et al., 2019).

Desarrollar cultivos más tolerantes a la sequía es otro reto clave para mejorar el rendimiento. La tolerancia a la sequía está relacionada con la fitohormona etileno, que regula la respuesta al estrés hídrico y temperaturas altas (Kawakami et al., 2013). Disminuir la sensibilidad al etileno puede aumentar el rendimiento. Estudios se han centrado en los genes ARGOS, que regulan negativamente la respuesta al etileno y modulan la transducción de señales, lo que mejora el rendimiento del grano en maíz (Shi et al., 2017).

4.2 Mejora en la calidad de los cultivos

Uno de los principales desafíos en la agricultura es mejorar la calidad de los cultivos sin comprometer la producción (Aparicio et al., 2021). En cereales como trigo, cebada y centeno, las proteínas del gluten pueden causar enfermedad celíaca en individuos susceptibles. Dado que las proteínas del gluten están codificadas por aproximadamente 100 loci en el genoma del trigo, los métodos tradicionales no logran reducir significativamente el contenido de gluten. Sin embargo, la tecnología CRISPR-Cas permite editar regiones específicas de los genes del gluten, generando líneas de trigo con hasta un 85% de reducción en el potencial alergénico (Sánchez-Artigas et al., 2021).

4.3 Resistencia a enfermedades

La modificación genética ofrece soluciones para enfrentar enfermedades en plantas, mediante la introducción de genes de resistencia dominantes o la alteración de factores de susceptibilidad. La edición de estos factores con CRISPR-Cas se presenta como un enfoque prometedor para proteger las plantas del estrés biótico (Aparicio et al., 2021). Por ejemplo, *Blumeria graminis f. sp. tritici*, el hongo causante del mildiú polvoriento en trigo se combate editando el gen EDR1 (Enhanced Disease Resistance 1), que codifica una MAPK quinasa que inhibe la respuesta defensiva. Utilizando

CRISPR-Cas, se han obtenido plantas resistentes mediante mutaciones simultáneas en tres dominios homólogos de EDR1 (Y. Zhang et al., 2017). Además, CRISPR-Cas9 puede fragmentar genomas de virus vegetales de ADN, proporcionando resistencia viral. No obstante, se requiere una evaluación cuidadosa, ya que la tecnología puede generar plantas con resistencia limitada o nula, lo que puede acelerar la aparición de fugas virales (Mehta et al., 2019).

4.4 Resistencia a herbicidas

Comparado con los métodos tradicionales de transgénesis que introducen genes foráneos como el bar, que codifica una fosfonitrocina N-acetiltransferasa, la edición dirigida mediante CRISPR-Cas de genes endógenos de la planta ofrece ventajas significativas, como flexibilidad, rapidez, bajo costo y naturaleza no transgénica (Aparicio et al., 2021). La enzima acetolactato sintasa (*als*) (Kuang et al., 2020), clave en la biosíntesis de aminoácidos de cadena ramificada y diana de herbicidas como sulfonilureas e imidazolinonas, puede conferir tolerancia a herbicidas mediante mutaciones específicas (Powles et al., 2010). A diferencia de los métodos convencionales, CRISPR permite generar germoplasma nuevo rápidamente, eliminando elementos genéticos negativos o introduciendo mutaciones de ganancia de función en regiones específicas del genoma (Aparicio et al., 2021).

5. Avances recientes en la tecnología CRISPR-Cas

5.1 Desarrollo de variantes de CRISPR-Cas con nuevas funcionalidades

La herramienta de edición de genes CRISPR-Cas es altamente empleada por su simplicidad, escalabilidad y asequibilidad en los proyectos de biotecnología y medicina. Dicha técnica posee múltiples variantes con diferentes funcionalidades y aplicaciones. Actualmente, el sistema SpCas9, es el más empleado cotidianamente debido a que posee amplia compatibilidad PAM y alta actividad. Sin embargo, las aplicaciones se ven comprometidas por sus efectos secundarios no deseados o las limitaciones por su falta de su secuencia PAM (NGG). Por lo tanto, existen variantes en desarrollo con el objetivo de cubrir dichas limitaciones e intentar optimizar el uso de la herramienta CRISPR-Cas (Allemailem et al., 2023). Los sistemas CRISPR-Cas en los que se profundizará son CRISPR-Cas12a, CRISPR-Cas13, CRISPR-CasX y CRISPR-CasPhi.

Tabla 1. Variedades actuales de las proteínas CRISPR-Cas.

Variable	Estructura	Blanco	Ventajas	Referencias
CRISPR-Cas12a	Es una endonucleasa de ARN (sgARN) proveniente de <i>Prevotella</i> y <i>Francisella</i> , proteína Cas12a y ARN guía.	Se dirige a secuencias seguidas por el motivo de reconocimiento de protospacer (PAM) rico en tiamina.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Amplía el rango de secuencias a editar, porque lo que aumenta la flexibilidad y capacidad de orientación. ▪ Produce múltiples cortes con extremos romos. ▪ Estructura compacta. 	Alok et al., 2020 Safari et al., 2019
CRISPR-Cas13	Conformado por proteína Cas13 y un ARN CRISPR (crARN). La proteína tiene	Se dirige al ARN.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Capacidad de dirigirse al ARN, contrario a las otras proteínas Cas que se dirigen a ADN. 	Huang et al., 2022 Hillary & Ceasar, 2023

	dos dominios, uno de reconocimiento de ARN y otro de actividad de corte nucleasa.		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Altamente específico para inducir mutaciones específicas. ▪ Como su objetivo es el ARN tiene distintas aplicaciones como es la detección genética de enfermedades virales o infecciosas. 	
CRISPR-CasX	Contiene proteína CasX desactivada, sgARN y un sustituto de ADNc.	Se dirige a secuencias específicas de ADN o ARN.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Su tamaño menor a 1000 aa ▪ Versatilidad ▪ Facilidad de edición genética puntual. 	Liu et al., 2020 Yang & Patel, 2019
CRISPR-CasPhi	Posee proteína ϕ asociada con un sistema CRISPR.	Se dirige hacia ADN viral utilizando un sgARN.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inusualmente pequeño. ▪ Eficaz en la defensa contra virus específicos. 	Pausch et al., 2020

ARN: Ácido ribonucleico, **ADN:** Ácido desoxirribonucleico, **sgARN:** guías de ARN de una cadena, **PAM:** Motivo de reconocimiento protospacer, **crARN:** ARN cortos de CRISPR.

5.2 Estrategias para aumentar la precisión de la edición génica

Con el gran uso de los mecanismos CRISPR-Cas en la edición génica podemos notar sus grandes ventajas y beneficios que nos proporcionan como la alta especificidad, eficiencia y rentabilidad, no obstante, conforme su práctica aumenta, también se han denotado limitaciones y/o áreas de mejora para mantener esta herramienta optimizada y que incremente la aplicación en múltiples campos de la ciencia (Chávez-Jacobo, 2018). Si la proteína Cas entra o sale del sitio PAM depende del sgARN, el tipo de proteína, la concentración de ribonucleoproteína, la temperatura de edición y el tiempo de acción. Uno de los efectos fuera del objetivo no deseados son la escisión, esto puede ser originado por el mal diseño del sgARN, baja especificidad de las proteínas Cas o la expresión excesiva de CRISPR-Cas (Sánchez-Artigas et al., 2021). Se propone la modificación de sgARN empleando bases de datos donde estadísticamente se pueda diseñar el modelo más preciso. Una de las transformaciones más empleadas es la eliminación o adición de nucleótidos en los extremos 5' o 3' para reducir las mutaciones fuera del objetivo, esto se logra porque se disminuye la afinidad de unión del sgARN pero se aumenta la unión de Cas9 a la secuencia objetivo, resultando en un aumento de la especificidad sin comprometer la eficiencia de edición genómica (Feng et al., 2022).

Otra estrategia es la identificación e implementación de diferentes variantes de la proteína Cas mediante el estudio del metabolismo empleadas en los microorganismos con la finalidad de encontrar aquellas que posean las mejores características o en efecto, tengan un amplio espectro de posibilidades de ser empeladas (Mattiello et al., 2022). Por otra parte, la concentración de ribonucleoproteína (RNP) es decisiva, si hay altas cantidades suelen aumentarse los efectos fuera del objetivo, y si las cantidades son bajas se reduce la eficiencia de escisión. Usualmente se prefiere que la cantidad sea baja mediante el uso de diferentes promotores o reducir la concentración baja de plásmidos (Hsu et al.,

2013). Por último, optimizar las condiciones de reacción, como es la temperatura y el tiempo que pueden afectar de manera positiva o negativamente. Se ha demostrado que reducir el tiempo de edición y mantener la temperatura estándar reduce las limitaciones y mejora la eficiencia (F. Zhang, 2019).

5.3 Aplicaciones emergentes de CRISPR-Cas en agricultura

La aplicación de esta herramienta va más allá de la edición genética, también se emplea para la modificación de la expresión génica y la epigenética de las plantas, ampliando las posibilidades para la mejora de cultivos de manera precisa y efectiva (Lee et al., 2019). La edición de secuencias implicadas en la regulación resulta un enfoque interesante para la mejora de la expresión génica. Se pueden eliminar los sitios represores dentro del gen de interés para dar como resultado una transcripción más estable y, por lo tanto, una mejoría en el cultivo (Lee et al., 2019). Como ocurre con la regulación de los miARN, los cuales regulan la estabilidad y traducción de transcritos en plantas, al eliminarlos mediante CRISPR-Cas permite mejorar rasgos como el rendimiento, calidad y resistencia al estrés, con diferencia a la modificación usual, esta técnica concede un ajuste fino de los niveles de expresión y traducción (Tyumentseva et al., 2023). No obstante, este enfoque puede resultar en fenotipos pleiotrópicos o indeseables, por lo que en la actualidad se siguen buscando alternativas más efectivas y específicas al momento de querer mejorar genéticamente un cultivo (Ferreira & Reis, 2023).

En cuanto a los cambios epigenéticos, son las modificaciones en los genes sin alterar la secuencia de ADN a causa de la edad o la exposición a factores ambientales, y son hereditarios (Lee et al., 2019; Tyumentseva et al., 2023). Por lo que la edición epigenética mediada por CRISPR-Cas es la reprogramación transcripcional en los sitios específicos empleando enzimas epigenéticas fusionadas con Cas de catalítica (dCas) para obtener beneficios como la tolerancia al estrés abiótico, y el mejoramiento del crecimiento y desarrollo de las plantas (Jogam et al., 2022). Las características de la reproducción asexual de las plantas favorecen el mantenimiento y estabilidad de las modificaciones del genoma. La epigenética tiene gran potencial para la investigación y futuras aplicaciones en la agricultura, debido a que puede estudiar la función de los factores de transcripción, regulación de genes enzimáticos en rutas metabólicas, y optimizar la expresión de genes funcionales que confieren características de resistencia (Qi et al., 2023).

6. Consideraciones éticas y regulatorias

6.1 Discusión sobre los aspectos éticos y sociales de la edición de genes en agricultura

La edición genética mediante CRISPR-Cas, sin la inserción de genes foráneos, se considera menos invasiva y, por lo tanto, moralmente más aceptable (Bartkowski et al., 2018). Estas tecnologías ofrecen ventajas medioambientales y económicas significativas, como el aumento del rendimiento de cultivos y la reducción en el uso de pesticidas y herbicidas. Sin embargo, si el acceso a estas tecnologías se restringe a unos pocos, podría beneficiar principalmente a grandes productores, dejando a pequeños agricultores y ganaderos en desventaja (Iáñez Pareja, 2016). Además, debido a las ventajas que presentan los cultivos comerciales alterados genéticamente respecto a los nativos, existe el riesgo potencial de que las semillas nativas sean gradual e inconscientemente desplazadas, lo que representa un peligro latente para la soberanía alimentaria de los pueblos, recordemos que la autosuficiencia en alimentos es la necesidad más vital en una comunidad y aprovechar de esa dependencia y susceptibilidad no sería para nada ético ni moral (Casquier & Ortiz, 2012).

6.2 Marco regulatorio actual y perspectivas futuras para la utilización de CRISPR-Cas en cultivos agrícolas.

Hoy en día existen regulaciones a las que se encuentran sometidos los organismos genéticamente modificados (OGM). En países como Canadá y Estados Unidos, la legislación sobre organismos modificados genéticamente (OMG) excluye a las plantas producidas mediante edición genética, ya que estas no contienen ADN foráneo (Waltz, 2018). En contraste, el Tribunal de Justicia de la Unión Europea (TJUE) ha dictaminado en el caso C-528/16 que los organismos

obtenidos mediante técnicas de mutagénesis deben ser regulados como OMG y están sujetos a la directiva correspondiente, debido a que estas técnicas alteran el material genético de manera que no ocurre de forma natural.

CRISPR-Cas está avanzando rápidamente, con investigaciones centradas en aumentar su eficiencia y reducir los efectos *off-target*. Las estrategias principales para mitigar estos efectos incluyen ajustar el tamaño del ARN guía, usar ribonucleoproteínas (RNP) y modificar la proteína Cas así como optimizar su concentración (Hsu et al., 2013). Mientras tanto, la mayoría de los estudios se enfocan en el silenciamiento de genes, la mutagénesis dirigida a través de reparación dirigida por homología (HDR) sigue siendo un reto debido a su baja probabilidad de ocurrencia en plantas y las dificultades en la transferencia de componentes al núcleo celular (Steinert et al., 2016). No obstante, se han logrado algunos avances en esta área.

6.3 Desafíos relacionados con la bioseguridad y la gestión de riesgos ambientales asociados con los cultivos editados genéticamente

Aunque CRISPR-Cas genera las posibilidades de mejorar cultivos y resolver problemáticas agrícolas, se tienen algunas preocupaciones respecto bioseguridad y biodiversidad. Esto es a raíz de que los genes editados formarán parte del ADN de la planta, la cual se espera que la producción escale a niveles exponenciales, siendo así expuesto al medio natural (Karavolias Nicolás, 2022).

Al tener contacto con el ambiente, existe un sinnúmero de posibilidades, desde la propagación de genes que pueden alterar ecosistemas naturales, eliminar o desplazar especies silvestres, generar resistencia y posible evolución de plagas y malas hierbas, dificultad en la regulación y/o monitoreo de cultivos, hasta el desconocimiento de la repercusión del consumo de dichos cultivos en humanos, animales, insectos u otras especies (Casquier & Ortiz, 2012). Es por eso por lo que se han implementado alternativas y generado teorías de investigación para reducir estos posibles efectos secundarios. En lo cual ha destacado la reducción de los efectos fuera del objetivo donde se buscan optimizar la herramienta para tener mayor fidelidad o utilizar sistemas de vectores alternativos menos riesgosos en la transferencia (J. Rath, 2018).

A pesar de lo dicho, los riesgos de contención siempre estarán presentes por lo que siempre será fundamental garantizar la contención de los cultivos genéticamente modificados o de patógenos hasta que se encuentre otra herramienta que pueda facilitar la proyección de las consecuencias a largo plazo por utilizar estos organismos genéticamente modificados y descartar cualquier peligro inminente. Por último, y no menos relevante, siempre será de alta relevancia la regulación y normalización por parte gubernamental, evitando las lagunas legales para que los avances científicos se realicen hacia el avance de la sociedad moderna y no al contrario (Iáñez Pareja, 2016).

7. Desafíos y limitaciones:

La tecnología de CRISPR-Cas ha demostrado ser una técnica revolucionaria para la edición genética la cual puede ser de gran ayuda en el área de la agricultura. Sin embargo, esta puede presentar ciertos desafíos que pueden limitar su uso en ciertas especies. Dentro de los desafíos se pueden encontrar el *off-target effect*, algún tipo de obstáculo técnico, económico, logístico o biológico, entre otros (F. Zhang et al., 2014).

7.1 Off-target effects y estrategias para minimizarlos.

Las mutaciones fuera del objetivo u *Off-target effect*, como se conocen en inglés, son una de las principales limitaciones que la tecnología CRISPR-Cas9 presenta. Por lo general este tipo de mutaciones o translocaciones de los cromosomas pueden ser observadas en tasas muy altas, lo que suele amenazar la especificidad de CRISPR-Cas9 (Fernanda Lammoglia-Cobo et al., 2016). En la actualidad se ha buscado minimizar este tipo de mutaciones, por lo general se trata de mejorar la especificidad de la tecnología CRISPR-Cas9 mediante la optimización de los componentes de edición genética. Las principales estrategias para la reducción de *off-targets* incluyen el diseño y la modificación de sgRNA, la mejora de enzimas de Cas9, edición génica independiente de DSB y mejora de los métodos de delivery (Guo et al., 2023).

En cuanto a mejoramiento de proteínas de Cas9, se ha demostrado que la proteína SpCas9 puede mejorar su precisión reduciendo su unión al ADN no deseado. Variantes como el eSpCas9 y el SpCas9-HF1 demostraron alta actividad en los sitios deseados y redujeron significativamente los sitios fuera del objetivo. Otras estrategias, como el uso de Cas9 nickases y la exploración de homólogos de Cas9 con secuencias PAM más raras, también están siendo investigadas para mejorar la especificidad de CRISPR-Cas9 (C. Liu et al., 2017).

Por otro lado, la modificación de sgARN se utiliza para mejorar la precisión en la edición del genoma mediante ajustes en su longitud y modificaciones químicas. Estas modificaciones reducen los efectos fuera del objetivo de la nucleasa Cas9, mejorando la especificidad de la edición genómica. Sin embargo, estas estrategias están limitadas a aplicaciones que utilizan ARN sintético en lugar de transgenes basados en ADN (Cho et al., 2014). Asimismo, se puede utilizar editores de bases como ABE y CBE que permiten la edición del genoma sin DSB, reduciendo los efectos fuera del objetivo. Sin embargo, pueden generar nuevos efectos fuera del objetivo, como la edición de ARN y ADN independiente de sgRNA. Métodos como EndoV-seq y Detect-seq ayudan a detectar estos efectos. Los editores epigenéticos ofrecen otra opción para reducir efectos fuera del objetivo, aunque deben evaluarse para posibles efectos epigenéticos no deseados (Liang et al., 2019).

Por último, la modificación de los métodos de entrega como electroporación de ribonucleoproteínas (RNP) muestra una alta eficiencia en la edición del objetivo y una baja incidencia de mutaciones fuera del objetivo en comparación con otros métodos de entrega. Además, el uso de nanopartículas lipídicas (LNPs) para entregar mRNA de Cas9 y sgRNA permite una rápida degradación “*in vivo*”, lo que lo convierte en el vector más popular para la edición génica “*in vivo*” y ha llevado al desarrollo de nuevos fármacos en ensayos clínicos (Cho et al., 2014).

7.2 Barreras para la aplicación eficiente de CRISPR-Cas en diferentes especies de plantas

Aunque se han realizado esfuerzos considerables para secuenciar los genomas vegetales, aún persisten lagunas significativas en nuestra comprensión de la función de muchos genes el uso de CRISPR-Cas9 en plantas enfrenta un desafío crucial el cual es la identificación precisa de los genes objetivo antes de cualquier manipulación genética. Este vacío de conocimiento limita la capacidad de realizar ediciones genéticas precisas para lograr los efectos deseados en las plantas. Sin embargo, los Estudios de Asociación del Genoma (GWAS) ofrecen una esperanza prometedora al predecir con precisión las funciones de los genes. Al utilizar los resultados de GWAS, los investigadores pueden orientar sus esfuerzos hacia la manipulación genética precisa en plantas, como se ha demostrado en casos recientes, como la modulación de los niveles de antocianina en el arroz. Este enfoque permite una aplicación más efectiva de la tecnología CRISPR-Cas9 en la ingeniería genética para alcanzar resultados específicos y deseados (Cho et al., 2014).

7.3 Obstáculos económicos y logísticos para la adopción generalizada de cultivos editados genéticamente en la agricultura

La implementación generalizada de cultivos modificados genéticamente en la agricultura podría enfrentar desafíos tanto económicos como logísticos. La introducción de nuevas tecnologías agrícolas requiere de importantes inversiones en investigación, desarrollo y comercialización, además de enfrentar regulaciones y preocupaciones de la opinión pública. Para superar estos obstáculos, es importante promover la colaboración entre el sector público y el privado para poder respaldar políticas que fomenten la innovación y el uso responsable de la tecnología CRISPR-Cas en la agricultura (Ronald & Kliegman, 2022).

En cuanto a las regulaciones de los cultivos, estas pueden complicar la introducción de la tecnología CRISPR-Cas9 en la agricultura debido a las diferencias y varianza que puede existir entre dichas regulaciones. Además, los altos costos asociados con el desarrollo y la comercialización de estos cultivos representan un desafío significativo, ya que se necesitan grandes inversiones en investigación y desarrollo, así como en trámites regulatorios (Baumann, 2016). Por

otro lado, la aceptación pública de los cultivos editados con la tecnología CRISPR-Cas9 son temas importantes de considerar ya que, requieren de infraestructura y materiales adecuados los cuales enfrentan preocupaciones de seguridad y aceptación por parte de la sociedad (Ronald & Kliegman, 2022)

8. Perspectivas futuras y áreas de investigación emergentes

8.1 Desafíos globales

La edición de genes con CRISPR-Cas nos brinda la oportunidad de abordar retos que hoy en día afectan a la población en diversos campos, CRISPR-Cas tiene como ventajas ser una tecnología adaptable, sencilla de manejar y eficiente (Chávez-Jacobo, 2018). En algún futuro cercano se podrían estar utilizando cultivos resistentes a condiciones climatológicas extremas, sobre todo a sequías y altas temperaturas, investigadores ya están trabajando en hacer esto posible e intentando hacer cambios en cultivos importantes como el trigo, arroz y la caña de azúcar (Jiménez & Carvajal-Campos, 2021). Esto es solo el comienzo de las investigaciones basadas en la tecnología CRISPR se plantea producir plantas que puedan combatir plagas, que más personas tengan acceso a alimentos, producir compuestos terapéuticos. Se cree que pronto se puedan ver los resultados de estas investigaciones y que en los próximos años aparecerán aplicaciones cada vez más creativas de las herramientas CRISPR (Ronald & Kliegman, 2022).

8.2 Investigación en nuevas aplicaciones y tecnologías relacionadas con CRISPR-Cas

Durante estos últimos años se han explorado las aplicaciones que pueden dársele a la tecnología de CRISPR-Cas9. Esta promete ser una herramienta que pueda utilizarse en diversas áreas como la medicina, la agricultura, biotecnología, entre otros, para erradicar enfermedades, desarrollar cultivos más resistentes y nutritivos, etc (Morshedzadeh et al., 2024).

El CRISPR-Cas9 se ha utilizado en el tratamiento de enfermedades genéticas como fibrosis quística, la anemia de células falciformes mediante la desactivación del gen BCL11A, lo que aumenta la producción de hemoglobina fetal y en la distrofia muscular de Duchenne (W. Liu et al., 2021). Dentro del área de prevención de enfermedades, se ha utilizado CRISPR-Cas9 en ensayos para tratar enfermedades infecciosas como el VIH, tanto eliminando el genoma del virus como bloqueando su entrada en las células huésped. Además de editar el genoma, CRISPR-Cas-9 puede regular artificialmente la expresión génica activando o silenciando genes específicos, lo que tiene aplicaciones en la investigación básica y la terapia génica (Vasconcelos Komninakis et al., 2024).

Los últimos avances en la investigación sobre CRISPR-Cas9 se centran en superar los desafíos relacionados con su precisión y eficacia en la entrega. Se están explorando métodos más equitativos para evaluar cómo Cas9 se une y corta el ADN, especialmente su actividad no deseada, que aún es poco entendida. Esto incluye técnicas como la secuenciación de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP-seq) y la detección de roturas de doble cadena para mapear exhaustivamente los sitios de acción del Cas9 en el genoma (Mingarro & del Olmo, 2023). Además, se están investigando sistemas de entrega no virales y versiones más pequeñas del Cas9 para superar las limitaciones de los vectores virales tradicionales, lo que podría ampliar las aplicaciones del CRISPR-Cas9 y mejorar su precisión. Estos esfuerzos prometen no solo una mejor comprensión de la biología y la especificidad de Cas9, sino también el desarrollo de terapias génicas más efectivas y seguras (Zhu, 2022).

8.3 Colaboraciones interdisciplinarias entre genetistas, agrónomos, bioinformáticos y reguladores para impulsar el desarrollo responsable y sostenible de la edición de genes en agricultura

Los ingenieros agrónomos han trabajado en el desarrollo de nuevas técnicas de producción y mejora de los cultivos, incluyendo especies y semillas más resistentes a plagas y climas extremos, así como mejoradas genéticamente.

Estas mejoras contribuyen a garantizar la seguridad alimentaria y aumentar los rendimientos e ingresos de los agricultores (Ronald & Kliegman, 2022). Tanto genetistas como bioinformáticos se dedican a estudiar la genética de los cultivos y analizar los datos genómicos. Esta colaboración permite identificar genes de interés, comprender su función y desarrollar estrategias de edición genética para mejorar las características de los cultivos, como su resistencia a enfermedades o su adaptación a diferentes condiciones ambientales (Zhou et al., 2023).

9. Conclusiones

CRISPR-Cas ha emergido como una técnica prometedora para la investigación vegetal básica y aplicada. La complementación de la Biotecnología vegetal con la técnica CRISPR-Cas ha permitido un avance significativo en el ámbito agrícola, las aplicaciones potenciales y las ya existentes son numerosas. El crecimiento evidente de la población requiere de cosechas prolíficas que se logren aun en las adversidades que traen consigo las regiones con climas complicados y el acelerado cambio climático, es por ello por lo que el uso de estas tecnologías en nuestro criterio es necesario, sin embargo, consideramos que un equilibrio con el ambiente sería lo apropiado, evaluar sin sesgo cuál es el límite en el que se puede avanzar sin comprometer nuestro entorno, sería la sinergia ideal.

La comunidad científica y empresarial debe apearse con conciencia a las regulaciones morales y éticas para que los avances realizados sean seguros para el humano y para el ambiente, es necesario hacer a un lado los intereses económicos que representa el uso de esta tecnología y priorizar el bienestar humano, así como su entorno. Sin duda, el uso de CRISPR-Cas en la agricultura se necesita y representaría un hito del siglo XXI siempre y cuando se realice con conciencia, viendo objetivamente en favor de la población y del ambiente, deberá estudiarse con cautela si un producto proveniente de edición genética es nocivo para la población o el ambiente, si afecta a alguno de estos no puede utilizarse.

10. Perspectivas a futuro

CRISPR-Cas9 se ha convertido en una herramienta muy importante para la edición genética en diversas áreas, desde la medicina, hasta la agricultura. En cuanto al área médica, esta tecnología ofrece la posibilidad de generar tratamientos más precisos y personalizados para una diversidad de enfermedades genéticas, infecciosas o incluso para el cáncer. Por otro lado, si se utiliza CRISPR-Cas9 en la agricultura, este puede revolucionar la producción de alimentos al permitir la creación de cultivos con una alta resistencia a enfermedades, a temperaturas y condiciones climáticas extremas y con un alto valor nutricional. Pudiéndose reflejar como un aumento en la seguridad alimentaria, reduciendo así la dependencia a pesticidas y fertilizantes.

Asimismo, en el ámbito de la biotecnología, se anticipan avances significativos con la capacidad de diseñar organismos modificados genéticamente para aplicaciones industriales y ambientales, como la producción de biocombustibles, la biorremediación y la síntesis de compuestos farmacéuticos. Sin embargo, estos avances también plantean desafíos éticos y regulatorios importantes que deben abordarse de manera cuidadosa y deliberada. Es crucial garantizar que el uso de CRISPR-Cas9 sea responsable y equitativo, protegiendo la seguridad y los derechos de las personas y el medio ambiente, al tiempo que se fomenta la innovación y el progreso científico.

11. Declaración de ética

Los autores respaldan plenamente este trabajo y han contribuido de manera significativa que justifica su autoría. No existe conflicto de interés y se han seguido todos los procedimientos éticos y requisitos necesarios.

12. Abreviaturas

ADN: ácido desoxirribonucleico; **ALS:** enzima acetato sintasa; **CRISPR-Cas:** repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas; **crARN:** ARN cortos de CRISPR; **DBS:** reparación de la ruptura de la doble

cadena de ADN; **tracrARN**: ARN CRISPR transactivante; **gARN**: ARN guía; **LOGL5**: citoquinina ribósido 5'-monofosfato fosforribohidrolasa; **Nt**: nucleótidos; **NHEJ**: unión de extremos no homólogos; **RH**: reparación homóloga; **PAM**: motivo adyacente de proto espaciador; **Quizalofop**: herbicida fenoxi selectivo de postemergencia, empleado para controlar las malas hierbas anuales y perennes; **OGM**: organismos genéticamente modificados; **RNP**: complejo de ribonucleoproteína.

13. Referencias bibliográficas

- Allemailem, K.S., Almatroodi, S.A., Almatroudi, A., Alrumaihi, F., Al Abdulmonem, W., Al-Megrin, W.A.I., Aljamaan, A.N., Rahmani, A.H., & Khan, A.A. (2023). Recent Advances in Genome-Editing Technology with CRISPR/Cas9 Variants and Stimuli-Responsive Targeting Approaches within Tumor Cells: A Future Perspective of Cancer Management. *Int. J. Mol. Sci.* 24(8), 7052. <https://doi.org/10.3390/ijms24087052>
- Alok, A., Sandhya, D., Jogam, P., Rodrigues, V., Bhati, K.K., Sharma, H., & Kumar, J. (2020). The Rise of the CRISPR/Cpf1 System for Efficient Genome Editing in Plants. *Front Plant Sci.* 11, 264. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00264>
- Aparicio-Moreno, R. (2021). Aplicaciones de la tecnología CRISPR-Cas en agricultura y biotecnología vegetal. Tesis, TFM. Universidad de Almería. <https://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/13722/APARICIO%20MORENO,%20RAFAEL.pdf?sequence=1>
- Bao, A., Burritt, D.J., Chen, H., Zhou, X., Cao, D., & Tran, L.-S.P. (2019). The CRISPR/Cas9 system and its applications in crop genome editing. *Crit Rev Biotechnol.* 39(3), 321–336. <https://doi.org/10.1080/07388551.2018.1554621>
- Baranov, D., Dolgov, S., & Timerbaev, V. (2024). New Advances in the Study of Regulation of Tomato Flowering-Related Genes Using Biotechnological Approaches. *Plants*, 13(3), 359. <https://doi.org/10.3390/plants13030359>
- Barrangou, R. (2013). CRISPR-Cas systems and RNA-guided interference. *WIREs RNA*, 4(3), 267–278. <https://doi.org/10.1002/wrna.1159>
- Bartkowski, B., Theesfeld, I., Pirscher F., Timaeus J. (2018). Snipping around for food: economic, ethical and policy implications of CRISPR/Cas genome editing. *Geoforum*, 96, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2018.07.017>
- Baumann, M. (2016). CRISPR/Cas9 genome editing – new and old ethical issues arising from a revolutionary technology. *NanoEthics*, 10(2), 139–159. <https://doi.org/10.1007/s11569-016-0259-0>
- Bhattacharya, S., & Satpati, P. (2023). Insights into the Mechanism of CRISPR/Cas9-Based Genome Editing from Molecular Dynamics Simulations. *ACS Omega*, 8(2), 1817–1837. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c05583>
- Blanchard, N., Salvioni, A., & Robey, E.A. (2020). Chapter 26 - Adaptive immunity. *Toxoplasma gondii* The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods. Third Edition, (pp. 1107–1146). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815041-2.00026-8>
- Butt, H., Eid, A., Momin, A.A., Bazin, J., Crespi, M., Arold, S.T., & Mahfouz, M.M. (2019). CRISPR directed evolution of the spliceosome for resistance to splicing inhibitors. *Genome Biol.* 20(1). <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1680-9>
- Casquier, J., & Ortiz, R. (2012). Las semillas transgénicas: ¿un debate bioético?. *Derecho PUCP*, 69(1), 281–300. <https://doi.org/10.18800/derechopucp.201202.014>
- Chávez-Jacobo, V.M. (2018). El sistema de Edición genética CRISPR/Cas y su uso como antimicrobiano específico. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 21(2), 116–123. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.2.5>
- Cho, S. W., Kim, S., Kim, Y., et al. (2014). Analysis of off-target effects of CRISPR/Cas-derived RNA-guided endonucleases and nickases. *Genome Res.* 24(1), 132–141. <https://doi.org/10.1101/gr.162339.113>
- Ellison, E.E., Nagalakshmi, U., Gamou, M.E., Huang, P. jui, Dinesh-Kumar, S., & Voytas, D.F. (2020). Multiplexed heritable gene editing using RNA viruses and mobile single guide RNAs. *Nat Plants*. 6(6), 620–624. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0670-y>

- Feng, S., Wang, Z., Li, A., Xie, X., Liu, J., Li, S., Li, Y., Wang, B., Hu, L., Yang, L., & Guo, T. (2022). Strategies for High-Efficiency Mutation Using the CRISPR/Cas System. *Front. Cell Dev. Biol.* 9, 803252. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.803252>
- Fernanda Lammoglia-Cobo, M., Lozano-Reyes, R., Daniel García-Sandoval, C., Michelle Avilez-Bahena, C., Trejo-Revales, V., Balam Muñoz-Soto, R., & López-Camacho, C. The revolution in genetic engineering: CRISPR/Cas system. *Investigación en Discapacidad*, 5(2), 116-128.
- Ferreira, S.S., & Reis, R.S. (2023). Using CRISPR/Cas to enhance gene expression for crop trait improvement by editing miRNA targets. *Journal of Experimental Botany*, 74(7), 2208–2212. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad003>
- Fineran, P.C., & Charpentier, E. (2012). Memory of viral infections by CRISPR-Cas adaptive immune systems: Acquisition of new information. *Virology*, 434(2), 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.10.003>
- Guo, C., Ma, X., Gao, F., & Guo, Y. (2023). Off-target effects in CRISPR/Cas9 gene editing. *Front. Bioen. Biotechnol.* 11, 1143157. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1143157>
- Herrera-Cabrera, B., Salgado-Garciglia, R., López-Valdez, L., Reyes, C., Montiel-Montoya, J., Martínez, F., Lucho-Consantano, G., & Barrales-Cureño, H. (2021). Edición genómica con CRISPR/Cas9: Premio Nobel de Química 2020. *Revista de Química*, 35(1), 22–30. <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/23324>
- Hillary, V.E., & Ceasar, S.A. (2023). A Review on the Mechanism and Applications of CRISPR/Cas9/Cas12/Cas13/Cas14 Proteins Utilized for Genome Engineering. *Mol Biotechnol.* 65(3), 311–325. <https://doi.org/10.1007/s12033-022-00567-0>
- Hsu, P.D., Scott, D.A., Weinstein, J. A., Ran, F.A., Konermann, S., Agarwala, V., Li, Y., Fine, E.J., Wu, X., Shalem, O., Cradick, T.J., Marraffini, L.A., Bao, G., & Zhang, F. (2013). DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nat Biotechnol.* 31(9), 827–832. <https://doi.org/10.1038/nbt.2647>
- Huang-Holger-Puchta, T.K., Schillberg, S., Huang-Á-Puchta, T.H., & Orzaez, D. (2021). Novel CRISPR/Cas applications in plants: from prime editing to chromosome engineering. *Transgenic Res.* 30(4), 529–549. <https://doi.org/10.1007/S11248-021-00238-X>
- Huang, Z., Fang, J., Zhou, M., Gong, Z., & Xiang, T. (2022). CRISPR-Cas13: A new technology for the rapid detection of pathogenic microorganisms. *Front. Microbiol.* 13, 1011399. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1011399>
- Hummel, A.W., Chauhan, R.D., Cermak, T., Mutka, A.M., Vijayaraghavan, A., Boyher, A., Starker, C.G., Bart, R., Voytas, D.F., & Taylor, N.J. (2018). Allele exchange at the EPSPS locus confers glyphosate tolerance in cassava. *Plant Biotechnol J.* 16(7), 1275-1282. <https://doi.org/10.1111/pbi.12868>
- Iáñez-Pareja, E. (2016). *Plantas transgénicas: aspectos éticos y sociales “El debate social sobre los transgénicos”*. 1-21. https://ipaz.ugr.es/wp-content/files/miradasalmundo/sesion40/Plantas_transgenicas-Aspectos_eticos_y_sociales.pdf
- Jiménez, V.M., & Carvajal-Campos, P. (2021). Ingeniería genética contra estrés abiótico en cultivos neotropicales: osmositos, factores de transcripción y CRISPR/Cas9. *Rev. Colomb. Biotechnol.* 23(2), 47–66. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v23n2.88487>
- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J.A., & Charpentier, E. (2012). A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science*, 337(6096), 816–821. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>
- Jogam, P., Sandhya, D., Alok, A., Peddaboina, V., Allini, V.R., & Zhang, B. (2022). A review on CRISPR/Cas-based epigenetic regulation in plants. *Int J Biol Macromol.* 219, 1261–1271. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.182>
- Karavolias, N.G., Horner, W., Abugu, M.N., & Evanega, S.N. (2021). Application of Gene Editing for Climate Change in Agriculture. *Front. Sustain. Food Syst.* 5, 685801. <https://doi.org/10.3389/FSUFS.2021.685801>

- Karavolias, N. (2022). CRISPR en agricultura: 2022 en revisión. Innovative Genomics Institute (IGI). <https://innovativegenomics.org/es/noticias/agricultura-n%C3%ADtida-2022/>
- Kawakami, E., Oosterhuis, D., & Snider, J. (2013). High Temperature and the Ethylene Antagonist 1-Methylcyclopropane Alter Ethylene Evolution Patterns, Antioxidant Responses, and Boll Growth in *Gossypium hirsutum*. *AJPS*, 4(7), 1400-1408. https://www.scirp.org/html/10-2600834_33999.htm
- Kuang, Y., Li, S., Ren, B., Yan, F., Spetz, C., Li, X., Zhou, X., & Zhou, H. (2020). Base-Editing-Mediated Artificial Evolution of *OsALS1* In Planta to Develop Novel Herbicide-Tolerant Rice Germplasms. *Mol. Plant*. 13(4), 565-572. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.01.010>
- Lee, J. E., Neumann, M., Duro, D. I., & Schmid, M. (2019). CRISPR-based tools for targeted transcriptional and epigenetic regulation in plants. *PLoS ONE*, 14(9), e0222778. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222778>
- Liang, P., Xie, X., Zhi, S., Sun, H., Zhang, X., Chen, Y., Chen, Y., Xiong, Y., Ma, W., Liu, D., Huang, J., & Songyang, Z. (2019). Genome-wide profiling of adenine base editor specificity by EndoV-seq. *Nat Commun*. 10(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-018-07988-z>
- Liu, C., Li, X., Meng, D., Zhong, Y., Chen, C., Dong, X., Xu, X., Chen, B., Li, W., Li, L., Tian, X., Zhao, H., Song, W., Luo, H., Zhang, Q., Lai, J., Jin, W., Yan, J., & Chen, S. (2017). A 4-bp Insertion at *ZmPLA1* Encoding a Putative Phospholipase A Generates Haploid Induction in Maize. *Mol. Plant*. 10(3), 520-522. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.01.011>
- Liu, C., Zhong, Y., Qi, X., et al. (2020). Extension of the *in vivo* haploid induction system from diploid maize to hexaploid wheat. *Plant Biotechnol J*. 18(2), 316–318. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6953200/>
- Liu, W., Li, L., Jiang, J., Wu, M., & Lin, P. (2021). Applications and challenges of CRISPR-Cas gene-editing to disease treatment in clinics. *Precis Clin Med*. 4(3), 179–191. <https://doi.org/10.1093/pccmedi/pbab014>
- Lu, K., Wu, B., Wang, J., Zhu, W., Nie, H., Qian, J., Huang, W., & Fang, Z. (2018). Blocking amino acid transporter *OsAAP3* improves grain yield by promoting outgrowth buds and increasing tiller number in rice. *Plant Biotechnol J*. 16(10), 1710–1722. <https://doi.org/10.1111/pbi.12907>
- Maher, M.F., Nasti, R. A., Vollbrecht, M., Starker, C.G., Clark, M. D., & Voytas, D. F. (2019). Plant gene editing through de novo induction of meristems. *Nat Biotechnol*. 38(1), 84–89. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0337-2>
- Manghwar, H., Lindsey, K., Zhang, X., & Jin, S. (2019). CRISPR/Cas System: Recent Advances and Future Prospects for Genome Editing. *Trends Plant Sci*. 24(12), 1102–1125. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.09.006>
- Mattiello, L., Rütgers, M., Sua-Rojas, M.F., Tavares, R., Soares, J.S., Begcy, K., & Menossi, M. (2022). Molecular and Computational Strategies to Increase the Efficiency of CRISPR-Based Techniques. *Front. Plant Sci*. 13, 868027. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.868027>
- Mehta, D., Stürchler, A., Anjanappa, R.B., Shan-e-Ali Zaidi, S., Hirsch-Hoffmann, M., Gruissem, W., & Vanderschuren, H. (2019). Linking CRISPR-Cas9 interference in cassava to the evolution of editing-resistant geminiviruses. *Genome Biol*. 20(1), 80. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1678-3>
- Mendoza-Télez, B., Zamora-Bello, A., Rosas-Paz, M., Villarreal-Huerta, D., De la Fuente, I., Segal-Kischinevzky, C., & González, J. (2022). Introducción a los sistemas CRISPR y sus aplicaciones en levaduras. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25, e502. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.502>
- Mingarro, G., & Del Olmo, M.L. (2023). Improvements in the genetic editing technologies: CRISPR-Cas and beyond. *Gene*, 852, 147064. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2022.147064>
- Mohr, S.E., Hu, Y., Ewen-Campen, B., Housden, B.E., Viswanatha, R., & Perrimon, N. (2016). CRISPR guide RNA design for research applications. *FEBS J*. 283(17), 3232–3238. <https://doi.org/10.1111/febs.13777>

- Morshedzadeh, F., Ghanei, M., Lotfi, M., Ghasemi, M., Ahmadi, M., Najari-Hanjani, P., Sharif, S., Mozaffari-Jovin, S., Peymani, M., & Abbaszadegan, M.R. (2024). An Update on the Application of CRISPR Technology in Clinical Practice. *Mol Biotechnol.* 66(2), 179–197. <https://doi.org/10.1007/s12033-023-00724-z>
- Nozawa, T., Furukawa, N., Aikawa, C., Watanabe, T., Haobam, B., Kurokawa, K., Maruyama, F., & Nakagawa, I. (2011). CRISPR Inhibition of Prophage Acquisition in *Streptococcus pyogenes*. *PLoS ONE*, 6(5), e19543. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019543>
- Palmgren, M.G., Edenbrandt, A.K., Vedel, S.E., et al. (2015). Are we ready for back-to-nature crop breeding?. *Trends Plant Sci.* 20(3), 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.11.003>
- de Pater, S., Klemann, B.J.P.M., & Hooykaas, P.J.J. (2018). True gene-targeting events by CRISPR/Cas-induced DSB repair of the PPO locus with an ectopically integrated repair template. *Sci Rep.* 8(1), 3338. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21697-z>
- Pausch, P., Al-Shayeb, B., Bisom-Rapp, E., et al. (2020). Crispr-Cas Φ from huge phages is a hypercompact genome editor. *Science*, 369(6501), 333–337. <https://doi.org/10.1126/science.abb1400>
- Pickar-Oliver, A., & Gersbach, C.A. (2019). The next generation of CRISPR–Cas technologies and applications. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 20(8), 490–507. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0131-5>
- Powles, S.B., & Yu, Q. (2010). Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annu Rev Plant Biol.* 61, 317–347. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112119>
- Qi, Q., Hu, B., Jiang, W., et al. (2023). Advances in Plant Epigenome Editing Research and Its Application in Plants. *Int J Mol Sci.* 24(4), 3442. <https://doi.org/10.3390/ijms24043442>
- Rath, D., Amlinger, L., Rath, A., & Lundgren, M. (2015). The CRISPR-Cas immune system: Biology, mechanisms and applications. *Biochimie*, 117, 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.03.025>
- Rath, J. (2018). Safety and Security Risks of CRISPR/Cas9. In: Schroeder, D., Cook, J., Hirsch, F., Fenet, S., Muthuswamy, V. (eds) Ethics Dumping. SpringerBriefs in Research and Innovation Governance. Springer, Cham. (pp. 107–113). https://doi.org/10.1007/978-3-319-64731-9_13
- Ronald, P., & Kliegman, M. (2022). *CRISPR en agricultura*. Hochstrasser et al. (Eds.) CRISPRpedia. Berkeley: Instituto de Genómica Innovadora, Universidad de California, Berkeley. <https://innovativegenomics.org/crisprpedia/crispr-in-agriculture/>
- Safari, F., Zare, K., Negahdaripour, M., Barekati-Mowahed, M., & Ghasemi, Y. (2019). CRISPR Cpf1 proteins: Structure, function and implications for genome editing. *Cell Biosci.* 9, 36. <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0298-7>
- Sánchez-Artigas, R., Díaz-Armas, M.T., Rodríguez-Duque, R., & Miguel-Soca, P.E. (2021). Principles and medical applications of gene editing by CRISPR/Cas. *Medisur*, 19(6), 1005-1014. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2021000601005&lng=es
- Shi, J., Gao H., Wang H., et al. (2017). ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnol J.* 15(2), 207–216. <https://doi.org/10.1111/pbi.12603>
- Steinert, J., Schiml, S., & Puchta, H. (2016). Homology-based double-strand break-induced genome engineering in plants. *Plant Cell Rep.* 35(7), 1429–1438. <https://doi.org/10.1007/S00299-016-1981-3>
- Tafurt-Cardona, Y. & Marin-Morales, M.A. (2014). Principales mecanismos de reparación de daños en la molécula de ADN. *Biosalud*, 13(2), 95-110. <https://revistasojs.ucaldas.edu.co/index.php/biosalud/article/view/4676/4267>
- Tyumentseva, M., Tyumentsev, A., & Akimkin, V. (2023). CRISPR/Cas9 Landscape: Current State and Future Perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 24(22), 16077. <https://doi.org/10.3390/ijms242216077>

- Vasconcelos-Komninakis, S., Domingues, W., Saeed-Sanabani, S., Angelo-Folgosi, V., Neves-Barbosa, I., & Casseb, J. (2024). CRISPR/CAS as a Powerful Tool for Human Immunodeficiency Virus Cure: A Review. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 40(6), 363–375. <https://doi.org/10.1089/AID.2022.0148>
- Waltz, E. (2018). With a free pass, CRISPR-edited plants reach market in record time. *Nat Biotechnol*. 36(1), 6–8. <https://doi.org/10.1038/nbt0118-6b>
- Wang, C., Wang, G., Gao, Y., et al. (2020). A cytokinin-activation enzyme-like gene improves grain yield under various field conditions in rice. *Plant Mol Biol*. 102(4–5), 373–388. <https://doi.org/10.1007/S11103-019-00952-5>
- Wang, Q., Zhang, D., Dai, Y.R., & Liu, C.C. (2024). Efficient tobacco rattle virus-induced gene editing in tomato mediated by the CRISPR/Cas9 system. *Biotechnol J*. 19(5), e2400204. <https://doi.org/10.1002/biot.202400204>
- Yamamoto, T., Kashojiya, S., Kamimura, S., et al. (2018). Application and development of genome editing technologies to the Solanaceae plants. *Plant Physiol Biochem*. 131, 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.02.019>
- Yang, H., & Patel, D.J. (2019). CasX: a new and small CRISPR gene-editing protein. *Cell Res*. 29(5), 345–346. <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0165-4>
- Zeng, Y., Wen, J., Zhao, W., Wang, Q., & Huang, W. (2020). Rational Improvement of Rice Yield and Cold Tolerance by Editing the Three Genes *OsPIN5b*, *GS3*, and *OsMYB30* With the CRISPR–Cas9 System. *Front Plant Sci*. 10, 1663. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.01663>
- Zhang, F. (2019). Development of CRISPR-Cas systems for genome editing and beyond. *Q. Rev. Biophys*. 52,e6. <https://doi.org/10.1017/s0033583519000052>
- Zhang, F., Wen, Y., & Guo, X. (2014). CRISPR/Cas9 for genome editing: Progress, implications and challenges. *Hum Mol Genet*. 23(R1), 40–46. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu125>
- Zhang, H., Si, X., Ji, X., Fan, R., Liu, J., Chen, K., Wang, D., & Gao, C. (2018). Genome editing of upstream open reading frames enables translational control in plants. *Nat Biotechnol*. 36(9), 894–898. <https://doi.org/10.1038/nbt.4202>
- Zhang, Y., Bai, Y., Wu, G., Zou, S., Chen, Y., Gao, C., & Tang, D. (2017). Simultaneous modification of three homoeologs of *TaEDR1* by genome editing enhances powdery mildew resistance in wheat. *Plant J*. 91(4), 714–724. <https://doi.org/10.1111/tpj.13599>
- Zhang, Z., Hua, L., Gupta, A., Tricoli, D., Edwards, K. J., Yang, B., & Li, W. (2019). Development of an *Agrobacterium*-delivered CRISPR/Cas9 system for wheat genome editing. *Plant Biotechnol J*. 17(8), 1623–1635. <https://doi.org/10.1111/pbi.13088>
- Zhou, J., Luan, X., Liu, Y., Wang, L., Wang, J., Yang, S., Liu, S., Zhang, J., Liu, H., & Yao, D. (2023). Strategies and Methods for Improving the Efficiency of CRISPR/Cas9 Gene Editing in Plant Molecular Breeding. *Plants*, 12(7), 1478. <https://doi.org/10.3390/plants12071478>
- Zhou, J., Xin, X., He, Y., et al. (2019). Multiplex QTL editing of grain-related genes improves yield in elite rice varieties. *Plant Cell Rep*. 38(4), 475–485. <https://doi.org/10.1007/S00299-018-2340-3>
- Zhu, Y. (2022). Advances in CRISPR/Cas9. *Biomed Res Int*. 2022, 9978571. <https://doi.org/10.1155/2022/9978571>

Descargo de responsabilidad/Nota del editor: Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones son responsabilidad exclusiva de los autores y colaboradores individuales y no de SAV y/o el/lo editor/es declinan toda responsabilidad por daños personales o materiales derivados de ideas, métodos, instrucciones o productos a los que se haga referencia en el contenido.

Cita: Elizondo-Luevano, J. H., García-Sotelo, L. A., Cárdenas-Paredes, I. E., de Dios-Romero, V., Villanueva-Terán, C. y Kačániová, M. (2024) «Edición de Genes y CRISPR-Cas: Aplicaciones, Avances y Desafíos: Genes y CRISPR», *Scientia Agricolis Vita*, 1(2), pp. 24–44. <https://agricolis.uanl.mx/index.php/revista/articulo/view/11>

Editor Académico: Guadalupe Gutiérrez -Soto

Recibido: fecha

Revisado: fecha

Aceptado: fecha

Publicado: 31-05-2024



Copyright: © 2024 por los autores. Presentado para su posible publicación en acceso abierto bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Revisión

Cannabinoides y su nanoencapsulamiento para mejorar sus propiedades terapéuticas en padecimientos intestinales

K. Antonio Cárdenas-Noriega¹, A. Soto-Dominguez², LE. Rodríguez-Tovar¹, GA. Guillen-Melendez², Hernández Vidal G^{1*†}, Uziel Castillo-Velázquez^{1* †}

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León, cisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México; Uziel_c@hotmail.com

² Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Dr. José Eleuterio González 235, Mitras Centro, 64460 Monterrey, N.L.

† Contribución igualitaria

* Correspondencia: uziel_c@hotmail.com gustavo.hernandezh@uanl.mx

Resumen: La planta de cannabis ha generado interés y controversia por sus diversos usos entre los que se destacan los usos medicinales. Cultivada por miles de años y distribuida globalmente, esta planta produce diversas sustancias de interés medicinal, como los fitocannabinoides, que interactúan con el sistema endocannabinoide (SEC) y la endocannabinoidoma (eCBoma) en animales. Estos sistemas están activos tanto en individuos sanos como en patologías, y juegan roles cruciales en la homeostasis intestinal y durante la inflamación. Los cannabinoides terapéuticos, conocidos por sus propiedades antiinflamatorias, enfrentan limitaciones como baja solubilidad y biodisponibilidad por algunas vías de administración, además de ser vulnerables a factores ambientales y fisiológicos. La nanotecnología emerge como una solución prometedora para superar estos obstáculos en la medicina herbal. Diversas metodologías han sido desarrolladas para crear sistemas de nanoentrega, como nanopartículas poliméricas, mejorando las propiedades físico-químicas y el potencial terapéutico de los cannabinoides. Estos avances en nanoencapsulamiento han mostrado resultados positivos, potenciando la efectividad de los fitocannabinoides en aplicaciones médicas.

Palabras clave: cannabis; fitocannabinoides; endocannabinoidoma, sistema endocannabinoide; nanotecnología; nanopartículas.

1. Introducción

La mariguana, o *Cannabis sativa*, ha sido punto de polémica en la actualidad en parte por sus usos recreativos, pero por otra parte por sus usos medicinales, entre otros. Esta planta ha sido cultivada por el ser humano durante miles de años y actualmente presenta una distribución cosmopolita. Notablemente, es productora de numerosas y diversas sustancias de interés medicinal, como los fitocannabinoides (Hourfane et al., 2023). Los fitocannabinoides interactúan con un complejo y amplio sistema de señalización celular en animales conocido inicialmente como sistema endocannabinoide (SEC). Tras su descubrimiento, investigaciones posteriores se enfocaron en identificar otros mediadores de los efectos de los fitocannabinoides, encontrando una red de señalización celular aún más amplia que el SEC, denominada recientemente como endocannabinoidoma (eCBoma) (Di Marzo and Piscitelli, 2015). Estos sistemas se encuentran activos en individuos sanos y durante eventos patológicos ejerciendo numerosas actividades aún estudiadas. En intestino, contribuyen a la homeostasis y tienen roles muy diversos durante episodios de inflamación, entre otras alteraciones. Estos sistemas pueden ser modulados a través de la administración terapéutica de cannabinoides y se han estudiado sus propiedades antiinflamatorias durante inflamación intestinal (Di Marzo and Piscitelli, 2015; Schiano Moriello et al., 2022). Sin embargo, surgen limitantes importantes con el uso de fitoterapéuticos, tales como su baja solubilidad, biodisponibilidad o sus propiedades físico-químicas que los hacen susceptibles a factores medioambientales o de la misma fisiología. La aplicación de la nanotecnología en la medicina herbal provee de una herramienta prometedora para superar estas limitaciones (Dewi et al., 2022). Múltiples metodologías se han desarrollado para elaborar diferentes tipos de sistemas de nanoentrega como nanopartículas poliméricas (Semwal et al., 2015) y ya se han desarrollado algunos sistemas de nanoentrega para el nanoencapsulamiento de cannabinoides, que han reportado resultados interesantes mejorando sus cualidades físico-químicas y potencial terapéutico.

1.1. *Cannabis sativa* L. y cannabinoides

La planta de cannabis, o mariguana, (*Cannabis sativa* L.) ha tenido presencia junto al ser humano durante milenios. Dos lugares parecen ser la cuna de los orígenes de la planta: las laderas de los Himalayas y las llanuras de Pamir y se cree que fue la primera planta domesticada por la humanidad. La evidencia más antigua de su cultivo data de una soga de cáñamo en 26,000 a.C en la Republica Checa (Hourfane et al., 2023). Otro hallazgo más reciente la sitúa alrededor de 10,000 años atrás en China, de acuerdo con evidencia arqueológica, en donde se utilizaba para obtención de alimento y fibras (Klumpers and Thacker, 2019). La planta para sus diversos usos hizo su primera aparición en el continente americano a través de Chile, en 1545; y Canadá, en 1606 (ElSohly et al., 2017). Su adaptabilidad a diferentes climas la ha llevado a una distribución mundial. Los registros históricos revelan que la planta ha sido utilizada como fuente de fibra, alimento, aceites, elemento recreativo, religioso, alimento para ganado y para el cuidado de piel y cabello. Además de su uso como elemento medicinal, en donde se ha destacado su uso terapéutico para el tratamiento de dolor crónico, depresión e inflamación. La planta contiene un gran número de compuestos químicos, alrededor de 550 moléculas. Estos componentes principalmente pertenecen a las clases de los cannabinoides, terpenoides, estilbenos, lignanamidas, carotenoides, flavonoides y alcaloides (Hourfane et al., 2023).

Los cannabinoides son moléculas con una estructura química específica o que actúan como ligandos farmacológicos de receptores de endocannabinoides humanos (Gülck and Møller, 2020). Los efectos fisiológicos de los cannabinoides se deben a múltiples mecanismos, que incluyen la interacción con receptores cannabinoides (CBRs) y otras rutas de señalización (Turner et al., 2017a). El cannabidiol (CBD) y el tetrahidrocannabinol (THC) son conocidos por su capacidad para modular las funciones de múltiples sistemas en salud y enfermedad (Nichols and Kaplan, 2020). Además, el CBD interactúa con múltiples blancos en desórdenes neurológicos, actuando a través del sistema endocannabinoide y la endocannabinoidoma (eCBoma), que incluyen diversos receptores acoplados a proteína G, canales iónicos activados por ligando y voltaje, y receptores activados por proliferador del peroxisoma (PPARs) (Di Marzo and Piscitelli, 2015).

1.2. Sistema endocannabinoide y endocannabinoidoma y su presencia en intestino.

El sistema endocannabinoide (SEC) comprende al conjunto de receptores acoplados a proteína G de cannabinoides, CB1 y CB2; sus ligandos endógenos más estudiados, los endocannabinoides 2-AG y AEA (anandamida); y las 5 enzimas que inicialmente se creía eran las únicas responsables de su síntesis y degradación, las enzimas NAPE-PLD y DAGL α/β para la síntesis de AEA y 2-AG, respectivamente; y FAAH y MAGL, para la degradación de AEA y 2-AG, respectivamente (Di Marzo and Piscitelli, 2015). Por su parte, la endocannabinoidoma (eCBoma) se define como el conjunto de mediadores lipídicos con similitudes químicas, bioquímicas y funcionales con endocannabinoides (AEA y 2AG), los blancos de estos mediadores (como receptores cannabinoides CB1/CB2 y otros receptores no CB1/CB2), y sus enzimas anabólicas y catabólicas. Debido a las interacciones entre estos ligandos y sus mediadores, como receptores acoplados a proteína G, canales iónicos activados por ligando, receptores PPAR, entre otros; se regulan diversas funciones del organismo como el metabolismo, inflamación y comportamiento, por ejemplo (Silvestri and Di Marzo, 2023). Los cannabinoides y receptores relacionados han mostrado una amplia distribución en animales y humanos. Por ejemplo, en intestino de felinos y caninos los receptores CB1 se pueden encontrar en neuronas entéricas, fibras nerviosas, células parietales gástricas, células epiteliales incluyendo caliciformes y enteroendocrinas. Mientras que CB2 se puede encontrar también en células epiteliales, pero mayormente en células inmunes perivasculares. GPR55 se puede encontrar en células de musculo liso y macrófagos de lámina propia, células plasmáticos y mastocitos. Algunos estudios han mostrado la expresión de receptores de la eCBoma durante inflamación intestinal y colitis crónica, sugiriendo que la señalización de este sistema está involucrada en la homeostasis intestinal (Schiano Moriello et al., 2022).

Tabla 1: Distribución principal de los receptores de la eCBoma investigados en el tracto gastrointestinal de perros (gris), gatos (amarillo) o ambas especies (verde).

Traducido de (Schiano Moriello et al., 2022)

Tipo celular	CB1	CB2	GPR55	PPAR α	PPAR γ
Células de la lámina propia					
Enterocitos/colonocitos					
Mastocitos					

Inmunocitos	█	█	█
Células de músculo liso		█	█
Macrófagos		█	█
Células caliciformes	█		
Neuronas del plexo submucoso y glía	█	█	
Glía del plexo mientérico			█
Neuronas del plexo mientérico		█	
Células enteroendocrinas	█	█	
Neuronas entéricas	█		
Células enterogliales			█

Los cannabinoides endógenos, fitogénicos o sintéticos pueden interactuar o internalizarse en células desde la membrana plasmática y dentro del citoplasma celular o núcleo. En células, se han descrito y sugerido diversos mecanismos con los cuales el cannabidiol, y otros cannabinoides, pueden ser absorbidos o interactuar (Figura 1).

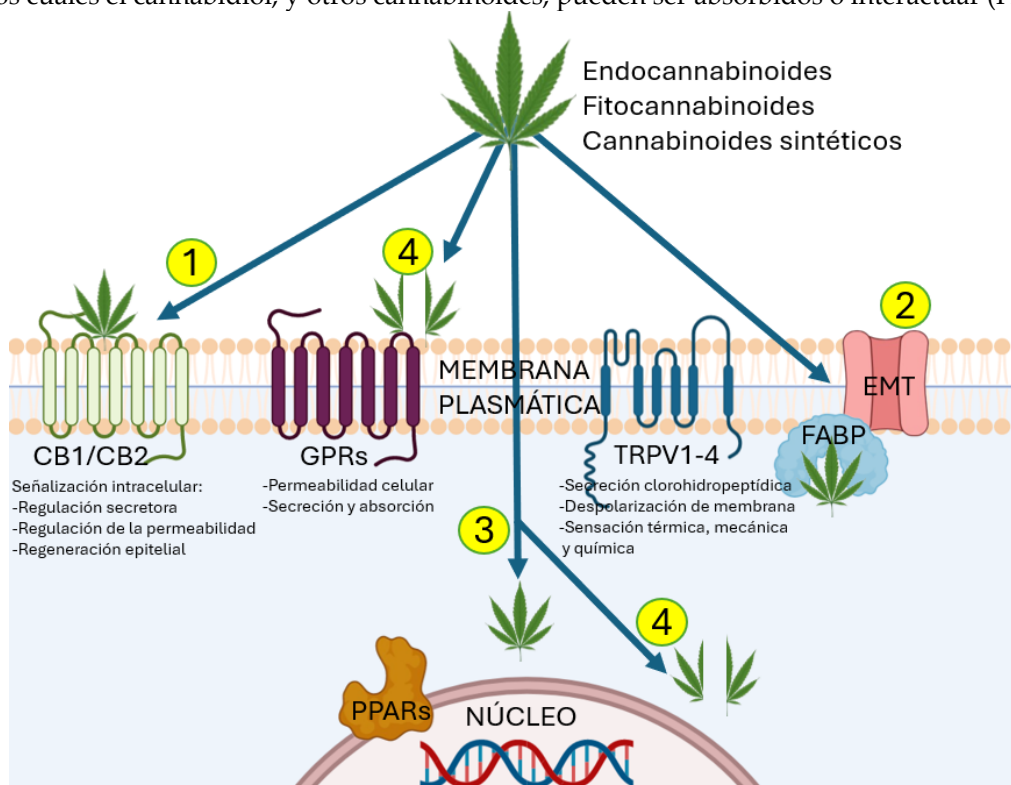


Figura 1: Mecanismos de interacción e internalización de cannabinoides (fitocannabinoides, cannabinoides endógenos y sintéticos) en células enterocíticas y sus receptores con afinidad a ligandos cannabinoides. 1. Unión directa a receptores con afinidad a cannabinoides. 2. Internalización a través de proteínas de unión a ácidos grasos (FABPs) y canales transportadores de membrana de endocannabinoides (EMT) putativos. 3. Internalización a través de la membrana plasmática. 4. La degradación de cannabinoides puede dar como resultado metabolitos activos (Di Marzo and Piscitelli, 2015; Lago-Fernandez et al., 2021; Morales et al., 2017).

Una gran parte de las consecuencias de las interacciones receptor-ligando aún no están del todo claras. En intestino, la activación de receptores CB1 y CB2 pueden modular el tránsito y contractilidad intestinal, la permeabilidad y la capacidad de absorción de nutrientes, además de la proliferación celular. Su modulación en células enteroendocrinas puede alterar la secreción de ciertas hormonas como incretinas, péptido YY, colecistoquinina, somatostatina, VIP, gastrina, entre otros (Srivastava et al., 2022). Este fCB ha mostrado poca afinidad a receptores CB1 y CB2 y se ha sugerido

que actúa como antagonista de éstos. Sin embargo, estudios posteriores indican que el CBD no actúa de manera ortostérica sobre estos receptores, sino de manera alostérica como un modulador negativo. Además de interactuar con más afinidad sobre otros receptores no CB1/CB2 (Turner et al., 2017b).

Los receptores activados por proliferador de peroxisoma son factores de transcripción activados por ligandos que forman parte de la superfamilia de receptores nucleares (NR) (Bougarne et al., 2018) con importancia en procesos biológicos importantes en la homeostasis y metabolismo (D'Aniello et al., 2019; Montagner et al., 2011) y otros procesos como inflamación, supervivencia celular y diferenciación. Son principalmente activados por ácidos grasos y sus derivados, actuando como sensores de éstos, pero su actividad también puede ser modulada por ligandos exógenos como drogas y otros xenobióticos. PPARs tienen roles en una amplia diversidad de funciones, así como una amplia gama de ligandos. También pueden interferir con la expresión génica interrumpiendo la actividad de proteínas y otros factores de transcripción por mecanismos de transrepresión. Estudios han demostrado el papel que tienen las tres isoformas de PPAR en diferentes grados en numerosos procesos como: diferenciación y proliferación de queratinocitos, reparación de la piel, procesos inflamatorios, tumorigénesis, apoptosis, metabolismo lipídico, glucosídico y aminoacídico, detoxificación, entre otros (Bougarne et al., 2018; Montagner et al., 2011; Peters et al., 2012).

Los canales TRP son una superfamilia de canales iónicos transmembrana involucrados como mediadores de una gran diversidad de estímulos químicos y físicos. Estos canales pueden formar homo- o heterotetrámeros para crear un poro o canal que, consecuente a un estímulo, media paso de cationes mono- o divalentes (Muller et al., 2019). Se encuentran ampliamente distribuidos en el cuerpo en diversos tejidos y tipos celulares, especialmente en células sensoriales, cumpliendo un papel importante en la visión, tacto, escucha, sensación de dolor y de temperatura (Moiseenkova-Bell and Wensel, 2011). Mientras que la mayoría de los canales TRP no presentan modulación por ligandos exógenos, se ha descubierto que 6 de éstos pueden tener afinidad por ligandos TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPA1 y TRPM8 (Vetter and Lewis, 2011). Estos canales activados por ligandos también han mostrado actividad mediada por cannabinoides, por lo que han sido denominados como "receptores cannabinoides ionotrópicos". La activación de canales TRP por ligando, conlleva a un estado de desensibilización, en el que el canal se insensibiliza a un estímulo posterior. El CBD ha mostrado ejercer efectos anti-hiperalgésicos por medio de la activación y consecuente desensibilización de TRPV1 (Muller et al., 2019). Sin embargo los efectos antinociceptivos de CBD sobre TRPV1 y TRPA1 están mediados por múltiples mecanismos que podrían involucrar a CB1R, 5TH1A y el receptor de adenosina A1, por lo que este mecanismo de antinocicepción del CBD requiere mayor exploración (Turner et al., 2017c). En intestino, podrían ejercer tres papeles principales; como sensores moleculares, incluso de productos bacterianos, facilitando su transporte celular, y transductores primarios de estímulos químicos y físicos; efectores de otros canales iónicos y receptores; y 3, promoviendo el transporte iónico a través de la membrana plasmática. TRPV1 y 4, pueden reconocer y transducir señales provenientes de metabolitos y toxinas nocivas contenidas en la comida, jugando un rol en el control de las funciones gastrointestinales, incluyendo el dolor (Alaimo and Rubert, 2019).

Para comprender el efecto de los cannabinoides, como el cannabidiol, sobre la microbiota intestinal, es importante revisar antes la dinámica entre el sistema con el que los cannabinoides interactúan, denominado endocannabinoidoma, y la microbiota intestinal en estado de salud y enfermedad. La microbiota intestinal se define como el sistema de trillones de microorganismos que habitan en el intestino animal, así como sus genes, proteínas y metabolitos, regulado por factores innatos y extrínsecos, que en ocasiones son los mismos que tienen influencia sobre la eCBoma. Estos sistemas complejos comparten características en común, como su papel, el de su regulación, desregulación o alteración en respuestas fisiológicas, como la inflamación (Silvestri and Di Marzo, 2023). Hay evidencia que sugiere que existe comunicación entre la eCBoma y la microbiota intestinal (Al-Khazaleh et al., 2024; Mir et al., 2023; Schiano Moriello et al., 2022; Varsha et al., 2022). En ratones libres de gérmenes o tratados con antibióticos presentaron diferentes concentraciones de receptores y/o mediadores de la eCBoma en intestino y cerebro, lo cual fue revertido o atenuado con trasplante de microbiota fecal de ratones WT. Contrario a esto, *in vitro* se ha reportado que mediadores eCBoma como NAEs o MAGs pueden alterar la composición de la microbiota, por dianas moleculares no dentro de la eCBoma encontrados en bacterias. Algunos estudios señalan que, así como algunas bacterias intestinales secretan moléculas señaladoras pequeñas que pueden incluso tener una influencia en sistema nervios, otras comensales pueden producir moléculas similares a endocannabinoides como N-acetil etanolaminas, glicinas y neurotransmisores aminas (Silvestri and Di Marzo, 2023).

La evidencia señala que la endocannabinoidoma y la microbiota intestinal se afectan mutuamente (Figura 2).

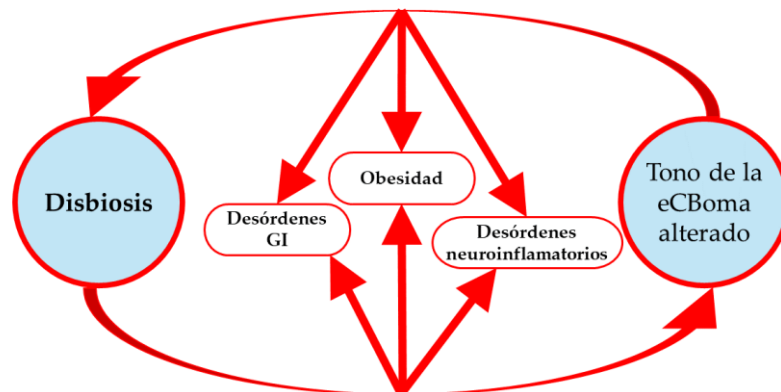


Figura 2: Comunicación cruzada entre la microbiota intestinal y la eCBoma. La disbiosis causa alteración en el tono de la eCBoma, que a cambio puede tener retroalimentación en la disbiosis. Interrupción en la comunicación cruzada entre estos dos complejos sistemas está involucrado en la patogénesis de enfermedades inflamatorias del intestino, obesidad y desórdenes neuroinflamatorios y de comportamiento (e.g. dolor neuropático y depresión). Traducido de (Schiano Moriello et al., 2022)

Algunas líneas de investigación sugieren que el tono alterado de la eCBoma observado en obesidad y diabetes se correlaciona con disbiosis. Niveles de cannabinoides endógenos y receptores de la eCBoma se han visto aumentados o disminuidos en animales con enteropatías, dependiendo del compuesto a buscar y de la enteropatía específica. En ratones con delección genética de una enzima biosintética de N-acil etanolaminas (NAE) se observó un estado inflamatorio basal, posiblemente resultado de la disminución de los niveles de palmitoil etanolamina (PEA), una NAE. Contrario a esto, la inhibición de la degradación enzimática de PEA redujo la inflamación de colon en dos modelos de IBD. El diseño y desarrollo de receptores agonistas o moduladores alostéricos de la eCBoma, así como inhibidores de enzimas anabólicas/catabólicas, puede tener potencial en intervenciones terapéuticas para enfermedades mediadas por disbiosis (Schiano Moriello et al., 2022)

El efecto de cannabinoides exógenos, de manera terapéutica, sobre la modulación de la microbiota intestinal también ha sido investigada en los últimos años. Estudios han demostrado que en la microbiota intestinal se encuentran enzimas capaces de metabolizar cannabinoides y convertirlos en diferentes compuestos lo que puede afectar su capacidad farmacológica. La microbiota intestinal también puede tener efecto en la exposición sistémica a los cannabinoides alterando la circulación enterohepática. Los ácidos biliares, metabolitos producidos por el hígado y modificados por la microbiota intestinal, pueden formar complejos con los cannabinoides, lo que conlleva a su reabsorción y retención prolongada en el organismo. La capacidad de la microbiota intestinal de metabolizar cannabinoides puede impactar su biodisponibilidad y efectos terapéuticos, evidenciando los efectos de la microbiota intestinal y los cannabinoides en la modulación de las respuestas fisiológicas. En el caso del CBD, cierta microbiota intestinal podría metabolizarlo a 7-hidroxi-CBD, compuesto con capacidades antiinflamatorias (Al-Khazaleh et al., 2024). El tratamiento con THC ha mostrado aumentar la abundancia de bacterias benéficas en pulmones e intestino como *Ruminococcus gnavus*, y reducir bacterias patógenas *Akkermansia muciniphila* en modelos animales. En un estudio, la coadministración de CBD con aceite de pescado disminuyó marcadores inflamatorios y la permeabilidad intestinal en un modelo murino de colitis inducido por DSS. Entre los resultados obtenidos, se observó que la terapia en conjunto produjo un aumento en la población de *A. muciniphila* y se redujo la de *Marinifilaceae*, *Desulfovibrionaceae* y *Ruminococcaceae*. Familias microbianas que podrían tener un rol en enfermedades gastrointestinales. En modelos murinos de obesidad, en donde un grado bajo de inflamación es evidente, se ha reportado un aumento en el tono del sistema endocannabinoide. Los ratones obesos mostraron altos niveles de ARNm CB1R en colon lo que fue reducido con el uso de prebióticos (Varsha et al., 2022).

CB1 está principalmente expresado en sistema nervioso central, pero también se le puede encontrar en tejidos periféricos y células. CB2 está principalmente expresado en bazo, tonsilas, timo y otros tejidos y se cree que es el principal modulador del sistema inmune. Su expresión en células inmunes sigue la siguiente jerarquía: células B > natural killer > polimorfonucleares PMN > neutrófilos > Células T CD8 > monocitos > células T CD4. El efecto de sus interacciones con cannabinoides, así como de la amplia gama de otros receptores con afinidad a cannabinoides, aún no se describen

del todo. Los CBRs son receptores acoplados a proteína G y la activación de estos receptores inhibe la adenilil ciclasa y canales de calcio dependientes de voltaje específicos así como activa a la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) (Khoury et al., 2022). CB1 está unido a canales iónicos, inhibiendo corrientes de canal K⁺ tipo D, N y Ca²⁺ P/Q y activando corrientes de K⁺ tipo A rectificadoras hacia dentro. El comportamiento de CB2 en canales iónicos es más variable. Sus mecanismos de señalización activa a la vía de fosfatidilinositol quinasa 3 y Akt PI3K-Akt y aumenta la síntesis de la ceramida, un mensajero esfingolípido, con efectos pro supervivencia y pro apoptóticos respectivamente (Tanasescu and Constantinescu, 2010).

1.3. Sistemas de nanoentrega para cannabinoides

Los productos naturales, incluyendo los fitoquímicos del cannabis, tienen un papel importante en la medicina debido a su capacidad para modular múltiples blancos biológicos y vías de señalización, especialmente en enfermedades multifactoriales y complejas como el cáncer (Vanti, 2021). Sin embargo, enfrentan limitaciones como baja absorción, distribución y biodisponibilidad. El uso de sistemas de liberación basados en nanotecnología puede ayudar a superar estas limitaciones, mejorando la biodisponibilidad y bioactividad de los compuestos herbales (Dewi et al., 2022).

Se han explorado una variedad de materiales para este fin, incluyendo polímeros naturales y sintéticos, nanotubos de carbono, metales como oro y plata, óxidos de metales y materiales semiconductores (Sharma et al., 2012). Se ha probado la eficacia de nanoformulaciones con CBD en modelos *in vitro* e *in vivo*, mejorando su solubilidad y mostrando efectos sinérgicos en combinación con fármacos (Assadpour et al., 2023). Los métodos para la producción de nanopartículas varían según la ruta de administración y el tipo de agente que se necesita cargar. La selección del material y el tipo de sistema de nanoentrega para cannabinoides es crucial (Semwal et al., 2015). Independientemente del método de síntesis, el resultado son suspensiones coloidales acuosas (Zielińska et al., 2020). A continuación, se desarrollan algunas de las metodologías utilizadas para la obtención de micro/nanopartículas.

1.4. Métodos de encapsulamiento de micro/nanopartículas poliméricas.

- Evaporación de solvente:

Se requiere una preparación inicial de una emulsión acuosa-oleosa de dos fases (Figura 3). En la fase orgánica se disuelve el polímero en un solvente orgánico volátil seguido de la dispersión del compuesto activo. La fase acuosa, que generalmente contiene un surfactante, se añade posteriormente (Maqbool and Noreen, 2019). La solución orgánica se emulsifica en la fase acuosa con un surfactante y se procesa utilizando homogenización a alta velocidad o sonicación, dando como resultado la dispersión de nanogotas. La suspensión de nanopartículas se forma por evaporación del solvente del polímero por agitación magnética a temperatura ambiente o por procesos de reducción de presión. Las nanopartículas se pueden cosechar por centrifugación y se pueden secar en frío para su almacenaje (Zielińska et al., 2020).

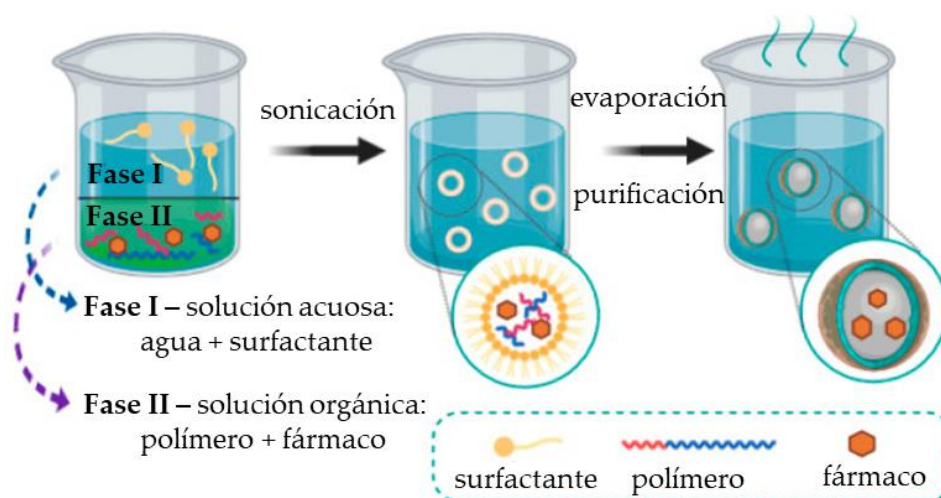


Figura 3: Representación esquemática del método de evaporación de solvente. Obtenido de (Zielińska et al., 2020).

- Emulsificación/difusión de solvente

Este método se basa en la miscibilidad parcial de un solvente orgánico como una fase acuosa en agua (Figura 4). Esta emulsión requiere dos fases inmiscibles. La orgánica contiene al polímero, aceite y al ingrediente activo en solvente parcialmente soluble en agua; mientras que la acuosa contiene agua y solvente del polímero. Una emulsión de agua y aceite se obtiene por medio de la inyección de la fase orgánica en la solución acuosa que contiene el polímero en homogenización. Posteriormente la emulsión se diluye en una cantidad grande de agua para superar la miscibilidad del solvente orgánico en agua. La formación de pequeñas partículas se da por una turbulencia interfacial que se crea entre las dos fases (Allouche, 2013; Zielińska et al., 2020).

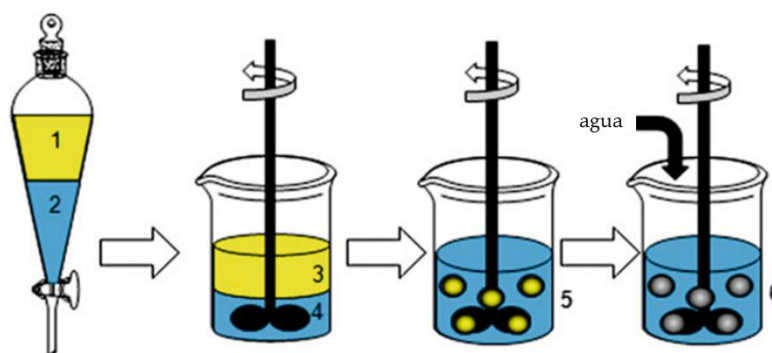


Figura 4: Representación esquemática del método de difusión de solvente. Obtenido de (Allouche, 2013).

- Salting out

En este proceso se tiene una emulsificación con un solvente de polímero, generalmente acetona, que es completamente miscible en agua (fase orgánica) (Figura 5). En la fase acuosa se disuelven altas cantidades de sal (como cloruro de magnesio o de calcio) o sucrosa para provocar una fuerte reacción de salting-out modificando la solubilidad del agua en el solvente. La fase orgánica que contiene el ingrediente activo, se emulsifica en la acuosa bajo homogenización fuerte mecánica. Posteriormente se añade agua destilada en la emulsión bajo agitación magnética y la formación de nanopartículas se da por la migración de los solventes orgánicos hidrofílicos de la fase oleosa a la fase acuosa (Wang et al., 2016; Zielińska et al., 2020).

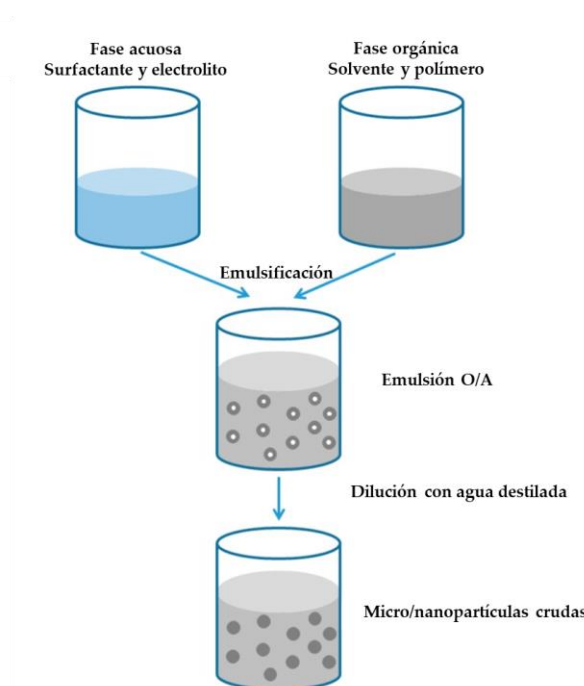


Figura 5: Representación esquemática del método de salting-out. Obtenido de (Wang et al., 2016).

- Nanoprecipitación

Es uno de los métodos más sencillos, económicos y reproducibles para obtener nanoesferas a partir de polímeros pre-formados (Figura 6). Para esta técnica se utiliza un solvente altamente soluble en agua y que pueda ser fácilmente eliminado por evaporación, como la acetona generalmente. Las nanopartículas se obtienen en una suspensión coloidal en donde la fase oleosa con el solvente, el polímero y el ingrediente activo se añaden lentamente a la fase acuosa que puede tener surfactante, bajo agitación moderada en forma de goteo. Debido a la rápida y espontánea difusión de la solución del polímero a la fase acuosa, las nanopartículas se forman instantáneamente en el evitar las moléculas de agua. Generalmente se añade la fase orgánica a la acuosa, pero esto puede cambiar sin afectar el resultado. Se utiliza para el encapsulamiento de agentes hidrofóbicos generalmente (Allouche, 2013; Wang et al., 2016; Zielińska et al., 2020)

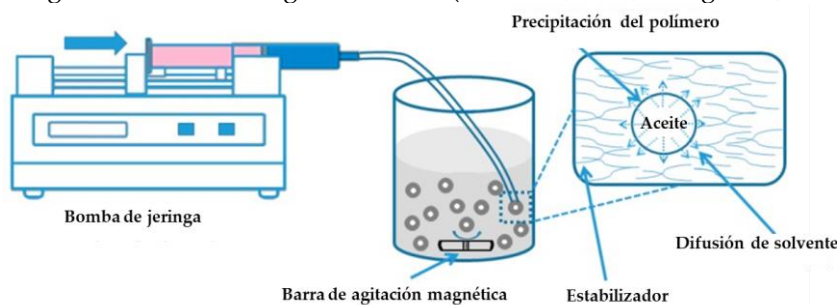


Figura 6: Representación esquemática del método de nanoprecipitación. Obtenido de (Wang et al., 2016).

- Gelación ionizante

Las formulaciones con quitosano se pueden hacer con tecnología de "crosslinking". Ésta se basa en formación de enlaces entre los grupos amino de la molécula de quitosano y otros grupos cargados negativamente, como polianiones en el tripolifosfato (TPP), generalmente utilizado para estas formulaciones, o alginato (Figura 7). En esta metodología, el ingrediente activo se encuentra disuelto en la fase orgánica (Gadziński et al., 2022). En primer lugar, se disuelve el quitosano en una solución con ácido acético y a ésta se le añade una solución acuosa que contiene el agente crosslinker, como el TPP, por goteo. El tamaño y carga de partícula puede variar debido al efecto del pH sobre la conformación del quitosano polimérico (Patra et al., 2018; Wang et al., 2016).

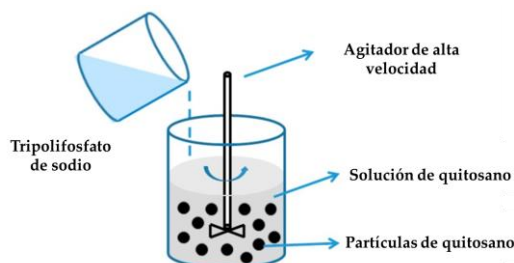


Figura 7: Representación esquemática del método de gelación ionizante. Obtenido de (Wang et al., 2016) .

- Secado supercrítico: rápida expansión de la solución supercrítica

En este método se utiliza un fluido supercrítico, generalmente CO₂, para solubilizar moléculas orgánicas (Figura 8). La solución supercrítica que contiene el agente de interés pasa a través de una boquilla hacia el medio ambiente, sufriendo expansión rápida. Se utiliza un mecanismo simple compuesto de una celda mezcladora de alta temperatura metálica, una jeringa de bombeo y una unidad de pre expansión. Con la jeringa de bombeo la solución viaja en la unidad de pre expansión y se calienta isobáricamente a la temperatura de pre expansión hasta llegar a la boquilla y a través de ella, llegando a temperatura ambiente. Una de las desventajas es la formación de micropartículas o aglomerados debido al mecanismo de coalescencia (Allouche, 2013).

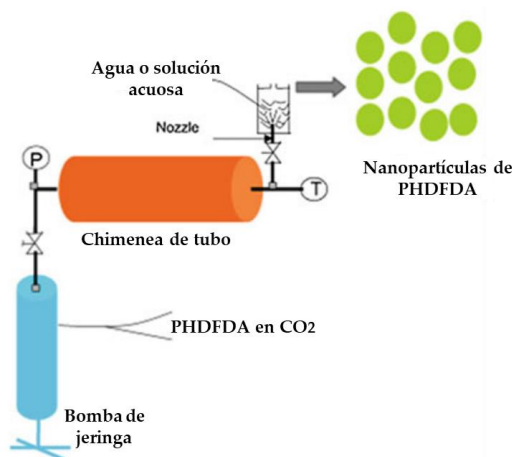


Figura 8: Representación esquemática del método de rápida expansión de la solución supercrítica. Traducido de (Allouche, 2013).

- Secado por spray

Se ha utilizado este proceso para producir partículas organizadas micrométricas o convertir suspensiones de nanopartículas en polvo seco (Figura 9). El método consiste en la atomización de un líquido en gotas finas por spray para que posteriormente estas tengan contacto con gas caliente para la evaporación de la humedad y dar pie a la formación del producto sólido que finalmente se puede recolectar. Una ventaja del método es el alto rendimiento de producción (Allouche, 2013; Wang et al., 2016).

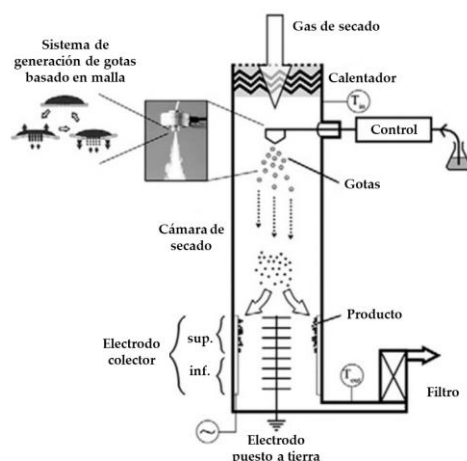


Figura 9: Representación esquemática del método de secado por spray. Obtenido de (Allouche, 2013).

La nanotecnología aplicada a la medicina se ha utilizado para formular una gran cantidad de componentes hidrofóbicos como fármacos, polímeros, proteínas, entre otros. Se ha reportado que alrededor del 40% de los fármacos clínicamente aprobados y un 90% de los fármacos en desarrollo son hidrofóbicos con baja solubilidad en agua (Liu et al., 2020). En un estudio se comparó el desempeño de una nanosuspensión con cannabidiol y una formulación oleosa comercial *in vitro* e *in vivo* al administrarse por la vía oral e intramuscular. La nanosuspensión con cannabidiol constaba de nanopartículas estabilizadas con lecitina o hidroxipropil-metelulosa formulados por la metodología de precipitación antisolvente. La nanosuspensión mostró mejor desempeño en los estudios de farmacocinética *in vitro* por ambas vías a comparación de las formulaciones oleosas con cannabidiol (Fu et al., 2022). La encapsulación de cannabinoides con materiales poliméricos y otros sistemas de nanoentrega ofrece una estrategia prometedora para mejorar su eficacia terapéutica y reducir los efectos secundarios, lo que podría tener importantes aplicaciones en el tratamiento de una variedad de enfermedades, como lo son las enfermedades inflamatorias intestinales (EII). Éstas comprenden un grupo de trastornos caracterizados por inflamación crónica y recurrente del tracto gastrointestinal. Aunque se han identificado factores de riesgo como predisposición genética, estímulos ambientales y microbiota intestinal, la etiología exacta de la EII sigue siendo incierta (Eltantawy et al., 2023; Saez et al., 2023). Aunque las terapias convencionales para la EII no han logrado reducir la necesidad de intervención quirúrgica, existe un interés creciente en el uso de plantas medicinales, como la *Cannabis sativa* L., para el tratamiento complementario de la EII. Se ha acumulado evidencia sobre el uso, eficacia y seguridad de los fitocannabinoides en diversos padecimientos como náuseas y vómito, insomnio, ansiedad, pérdida de apetito, dolor neuropático y crónico, desórdenes psiquiátricos, epilepsia (Klumpers and Thacker, 2019) y se ha señalado su actividad antiparasitaria, antiviral, antiinflamatoria, anticancerígena, neuroprotectora, dermocosmética (Hourfane et al., 2023), desórdenes gastrointestinales (Martínez et al., 2020) entre otros.

5. Conclusiones

El interés por la búsqueda de fitoterapéuticos para el tratamiento de enfermedades de importancia humana y veterinaria, como lo son las EIIs, ha mostrado aumentar. Aunque las terapias convencionales para las EIIs no han logrado reducir la necesidad de intervención quirúrgica, existe un interés creciente en el uso de plantas medicinales, como la *Cannabis sativa* L., como tratamiento complementario. Se han estudiado varios compuestos derivados de plantas con resultados prometedores, aunque aún se necesitan más investigaciones para desarrollar terapias efectivas y basadas en evidencia. Los sistemas de nanoentrega basados en cannabinoides u otros fitocompuestos presentan una alternativa prometedora y potencialmente más segura que otros tratamientos actualmente utilizados para enfermedades que afectan a humanos y animales.

6. Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

Al-Khazaleh, A.K., Jaye, K., Chang, D., Münch, G.W., Bhuyan, D.J., 2024. Buds and Bugs: A Fascinating Tale of Gut Microbiota and

- Cannabis in the Fight against Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 25. <https://doi.org/10.3390/ijms25020872>
- Alaimo, A., Rubert, J., 2019. The pivotal role of TRP channels in homeostasis and diseases throughout the gastrointestinal tract. *Int. J. Mol. Sci.* 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20215277>
- Allouche, J., 2013. Synthesis of Organic and Bioorganic Nanoparticles: An Overview of the Preparation Methods, in: Brayner, R., Fiévet, F., Coradin, T. (Eds.), *Nanomaterials: A Danger or a Promise?* Springer London, London, pp. 27–74. https://doi.org/10.1007/978-1-4471-4213-3_2
- Assadpour, E., Rezaei, A., Das, S.S., Krishna Rao, B.V., Singh, S.K., Kharazmi, M.S., Jha, N.K., Jha, S.K., Prieto, M.A., Jafari, S.M., 2023. Cannabidiol-Loaded Nanocarriers and Their Therapeutic Applications. *Pharmaceutics* 16, 487. <https://doi.org/10.3390/ph16040487>
- Bougarne, N., Weyers, B., Desmet, S.J., Deckers, J., Ray, D.W., Staels, B., De Bosscher, K., 2018. Molecular Actions of PPAR α in Lipid Metabolism and Inflammation. *Endocr. Rev.* 39, 760–802. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00064>
- D’Aniello, E., Fellous, T., Iannotti, F.A., Gentile, A., Allarà, M., Balestrieri, F., Gray, R., Amodeo, P., Vitale, R.M., Di Marzo, V., 2019. Identification and characterization of phytocannabinoids as novel dual PPAR α / γ agonists by a computational and in vitro experimental approach. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1863, 586–597. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2019.01.002>
- Dewi, M.K., Chaerunisaa, A.Y., Muhaimin, M., Joni, I.M., 2022. Improved Activity of Herbal Medicines through Nanotechnology. *Nanomaterials* 12. <https://doi.org/10.3390/nano12224073>
- Di Marzo, V., Piscitelli, F., 2015. The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids. *Neurotherapeutics* 12, 692–698. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0374-6>
- ElSohly, M.A., Radwan, M.M., Gul, W., Chandra, S., Galal, A., 2017. Phytochemistry of Cannabis sativa L., in: *Phytocannabinoids: Unraveling the Complex Chemistry and Pharmacology of Cannabis Sativa*. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Cham, pp. 1–36. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45541-9_1
- Eltantawy, N., El-Zayyadi, I.A.E.H., Elberry, A.A., Salah, L.M., Abdelrahim, M.E.A., Kassem, A.B., 2023. A review article of inflammatory bowel disease treatment and pharmacogenomics. *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.* 12. <https://doi.org/10.1186/s43088-023-00361-0>
- Fu, X., Xu, S., Li, Z., Chen, K., Fan, H., Wang, Y., Xie, Z., Kou, L., Zhang, S., 2022. Enhanced Intramuscular Bioavailability of Cannabidiol Using Nanocrystals: Formulation, In Vitro Appraisal, and Pharmacokinetics. *AAPS PharmSciTech.* <https://doi.org/10.1208/s12249-022-02239-3>
- Gadziński, P., Froelich, A., Jadach, B., Wojtyłko, M., Tatarek, A., Białek, A., Krysztofiak, J., Gackowski, M., Otto, F., Osmalek, T., 2022. Ionotropic Gelation and Chemical Crosslinking as Methods for Fabrication of Modified-Release Gellan Gum-Based Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics* 15, 108. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010108>
- Gülck, T., Møller, B.L., 2020. Phytocannabinoids: Origins and Biosynthesis. *Trends Plant Sci.* 25, 985–1004. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.05.005>
- Hourfane, S., Mechqoq, H., Bekkali, A.Y., Rocha, J.M., El Aouad, N., 2023. A Comprehensive Review on Cannabis sativa Ethnobotany, Phytochemistry, Molecular Docking and Biological Activities. *Plants* 12, 1–43. <https://doi.org/10.3390/plants12061245>
- Khoury, M., Cohen, I., Bar-Sela, G., 2022. “The Two Sides of the Same Coin” – Medical Cannabis, Cannabinoids and Immunity: Pros and Cons Explained. *Pharmaceutics* 14, 389. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020389>
- Klumpers, L.E., Thacker, D.L., 2019. A brief background on cannabis: From plant to medical indications. *J. AOAC Int.* 102, 412–420. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0208>
- Lago-Fernandez, A., Zarzo-Arias, S., Jagerovic, N., Morales, P., 2021. Relevance of peroxisome proliferator activated receptors in multitarget paradigm associated with the endocannabinoid system. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 1–28. <https://doi.org/10.3390/ijms22031001>
- Liu, Y., Yang, G., Zou, D., Hui, Y., Nigam, K., Middelberg, A.P.J., Zhao, C.-X., 2020. Formulation of Nanoparticles Using Mixing-

- Induced Nanoprecipitation for Drug Delivery. *Ind. Eng. Chem. Res.* 59, 4134–4149. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b04747>
- Maqbool, I., Noreen, S., 2019. A Review of Novel Techniques for Nanoparticles Preparation. *Glob. Drug Des. Dev. Rev.* IV, 41–50. [https://doi.org/10.31703/gdddr.2019\(IV-I\).05](https://doi.org/10.31703/gdddr.2019(IV-I).05)
- Martínez, V., Iriondo De-Hond, A., Borrelli, F., Capasso, R., Del Castillo, M.D., Abalo, R., 2020. Cannabidiol and other non-psychoactive cannabinoids for prevention and treatment of gastrointestinal disorders: Useful nutraceuticals? *Int. J. Mol. Sci.* 21. <https://doi.org/10.3390/ijms21093067>
- Mir, H.-D., Giorgini, G., Di Marzo, V., 2023. The emerging role of the endocannabinoidome-gut microbiome axis in eating disorders. *Psychoneuroendocrinology* 154, 106295. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2023.106295>
- Moiseenkova-Bell, V., Wensel, T.G., 2011. Functional and Structural Studies of TRP Channels Heterologously Expressed in Budding Yeast, in: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. pp. 25–40. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0265-3_2
- Montagner, A., Rando, G., Degueurce, G., Leuenberger, N., Michalik, L., Wahli, W., 2011. New insights into the role of PPARs. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 85, 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2011.04.016>
- Morales, P., Hurst, D.P., Reggio, P.H., 2017. Molecular Targets of the Phytocannabinoids: A Complex Picture. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* https://doi.org/10.1007/978-3-319-45541-9_4
- Muller, C., Morales, P., Reggio, P.H., 2019. Cannabinoid ligands targeting TRP channels. *Front. Mol. Neurosci.* 11, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00487>
- Nichols, J.M., Kaplan, B.L.F., 2020. Immune Responses Regulated by Cannabidiol. *Cannabis Cannabinoid Res.* <https://doi.org/10.1089/can.2018.0073>
- Patra, J.K., Das, G., Fraceto, L.F., Vangelie, E., Campos, R., Rodriguez, P., Susana, L., Torres, A., Armando, L., Torres, D., Grillo, R., 2018. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *J. Nanobiotechnology* 1–33. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>
- Peters, J.M., Shah, Y.M., Gonzalez, F.J., 2012. The role of peroxisome proliferator-activated receptors in carcinogenesis and chemoprevention. *Nat. Rev. Cancer* 12, 181–195. <https://doi.org/10.1038/nrc3214>
- Saez, A., Herrero-Fernandez, B., Gomez-Bris, R., Sánchez-Martinez, H., Gonzalez-Granado, J.M., 2023. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease: Innate Immune System. *Int. J. Mol. Sci.* 24. <https://doi.org/10.3390/ijms24021526>
- Schiano Moriello, A., Di Marzo, V., Petrosino, S., 2022. Mutual Links between the Endocannabinoidome and the Gut Microbiome, with Special Reference to Companion Animals: A Nutritional Viewpoint. *Animals* 12, 348. <https://doi.org/10.3390/ani12030348>
- Semwal, R., Semwal, R.B., Semwal, D.K., 2015. Drug Delivery Systems: Selection Criteria and Use, in: *Encyclopedia of Biomedical Polymers and Polymeric Biomaterials*. Taylor & Francis, pp. 2938–2949. <https://doi.org/10.1081/E-EBPP-120050409>
- Sharma, A., Madhunapantula, S. V., Robertson, G.P., 2012. Toxicological considerations when creating nanoparticle-based drugs and drug delivery systems. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 8, 47–69. <https://doi.org/10.1517/17425255.2012.637916>
- Silvestri, C., Di Marzo, V., 2023. The Gut Microbiome–Endocannabinoidome Axis: A New Way of Controlling Metabolism, Inflammation, and Behavior. *Function* 4, 5–7. <https://doi.org/10.1093/function/zqad003>
- Srivastava, R.K., Lutz, B., Ruiz de Azua, I., 2022. The Microbiome and Gut Endocannabinoid System in the Regulation of Stress Responses and Metabolism. *Front. Cell. Neurosci.* 16. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.867267>
- Tanasescu, R., Constantinescu, C.S., 2010. Cannabinoids and the immune system: An overview. *Immunobiology* 215, 588–597. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2009.12.005>
- Turner, S.E., Williams, C.M., Iversen, L., Whalley, B.J., 2017a. Molecular Pharmacology of Phytocannabinoids, Spanier, ed, *Progress in the chemistry of organic natural products*. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45541-9_3
- Turner, S.E., Williams, C.M., Iversen, L., Whalley, B.J., 2017b. Molecular Pharmacology of Phytocannabinoids, in: *Scientific Reports*. pp. 61–101. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45541-9_3

- Turner, S.E., Williams, C.M., Iversen, L., Whalley, B.J., 2017c. Molecular Pharmacology of Phytocannabinoids, Progress in the chemistry of organic natural products. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45541-9_3
- Vanti, G., 2021. Recent strategies in nanodelivery systems for natural products: a review. Environ. Chem. Lett. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01276-x>
- Varsha, K.K., Nagarkatti, M., Nagarkatti, P., 2022. Role of Gut Microbiota in Cannabinoid-Mediated Suppression of Inflammation. Adv. Drug Alcohol Res. 2, 1–10. <https://doi.org/10.3389/adar.2022.10550>
- Vetter, I., Lewis, R.J., 2011. Natural Product Ligands of TRP Channels BT - Transient Receptor Potential Channels.
- Wang, Y., Li, P., Tran, T.T.D., Zhang, J., Kong, L., 2016. Manufacturing techniques and surface engineering of polymer based nanoparticles for targeted drug delivery to cancer. Nanomaterials 6, 1–18. <https://doi.org/10.3390/nano6020026>
- Zielińska, A., Carreiró, F., Oliveira, A.M., Neves, A., Pires, B., Venkatesh, D.N., Durazzo, A., Lucarini, M., Eder, P., Silva, A.M., Santini, A., Souto, E.B., 2020. Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. Molecules 25, 3731. <https://doi.org/10.3390/molecules25163731>

Descargo de responsabilidad/Nota del editor: Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones son responsabilidad exclusiva de los autores y colaboradores individuales y no de SAV y/o el/lo editor/es declinan toda responsabilidad por daños personales o materiales derivados de ideas, métodos, instrucciones o productos a los que se haga referencia en el contenido.

Cita: Cárdenas Noriega, K. A., Soto Domínguez, A., Rodríguez Tovar, L. E., Guillen Melendez, G. A., Hernandez Vidal, G. y Castillo Velázquez, U. (2024) «Cannabinoides y su nanoencapsulamiento para mejorar sus propiedades terapéuticas en padecimientos intestinales», *Scientia Agricolis Vita*, 1(2), pp. 55–67. <https://agricolis.uanl.mx/index.php/revista/article/view/12>

Editor Académico: Guadalupe Gutiérrez Soto

Recibido: fecha

Revisado: fecha

Aceptado: fecha

Publicado: 31-05-2024



Copyright: © 2023 por los autores. Presentado para su posible publicación en acceso abierto bajo los terminos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



SCIENTIA AGRICOLIS VITA

Revista de Investigación Científica de la Facultad de Agronomía - UANL

Volumen 1 / Número 2 / Mayo - Agosto / 2024