



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN CON
QUERCETINA SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO DE *Bacillus*
thuringiensis CON POTENCIAL INSECTICIDA”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

KAREN VILLASANA RODRÍGUEZ

DIRIGIDA POR

MC. ANDRÉS CARRILLO GARMENDIA

CODIRIGIDA POR

DR. LUIS ALBERTO MADRIGAL PÉREZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:

 **Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.

 **NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).

 **SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN CON
QUERCETINA SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO DE *Bacillus*
thuringiensis CON POTENCIAL INSECTICIDA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

KAREN VILLASANA RODRÍGUEZ

DIRIGIDA POR

MC. ANDRÉS CARRILLO GARMENDIA

SINODALES

MC. ANDRÉS CARRILLO GARMENDIA
DIRECTOR

DR. LUIS ALBERTO MADRIGAL PÉREZ
CO-DIRECTOR

DRA. MONSERRAT ESCAMILLA GARCÍA
SINODAL

DR. JORGE NOEL GRACIDA RODRÍGUEZ
SINODAL

I. ÍNDICE GENERAL

I.ÍNDICE GENERAL	i
II.ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
III.ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN	
I.INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
II .1 Relevancia de la agricultura en México	3
II.2 Impacto del pulgón (<i>Aphididae</i> spp) sobre los cultivos	3
II.3 Alternativas potenciales para el control de plagas	4
II.4 Capacidad insecticida de la proteína CRY	6
II.5 Influencia del estrés sobre la esporulación	7
III. HIPÓTESIS.....	11
IV. OBJETIVOS.....	12
IV.1 General.....	12
IV.2 Específicos	12
V. METODOLOGÍA.....	13
V.1 Materiales	13
V.1.1. Material Biológico	13
V.1.2. Medio de cultivo.....	13
V.1.3. Activación de la cepa	13
V.2 Métodos	13
V.2.1. Curva de Crecimiento	13
V .2.2 Evaluación de la suplementación de quercetina sobre el estrés oxidativo	15
V.3 Análisis estadístico	16
VI. RESULTADOS	16
VI.1. Curva de crecimiento.....	16
VI.2. Curva de crecimiento suplementando diferentes concentraciones de Quercetina	17
VII. DISCUSIÓN.....	26
VIII. CONCLUSIÓN	30

IX. REFERENCIAS	31
X. ANEXOS.....	40

II. ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1: Influencia de quercetina sobre el crecimiento celular de <i>Bacillus thuringiensis</i> ..	25
2: Análisis de varianza de la velocidad de crecimiento.....	41
3: Análisis de medias de la velocidad de crecimiento.....	41
4: Análisis de varianza del tiempo de duplicación.....	41
5: Análisis de medias del tiempo de duplicación.....	41

III. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1: Curva de crecimiento celular de <i>Bacillus thuringiensis</i>	17
2: Efecto de la quer cetina sobre el crecimiento celular de <i>B. thuringiensis</i>	18
3: Impacto de la quer cetina sobre la tasa específica de crecimiento	19
4: Influencia de la suplementación de quer cetina sobre el tiempo de duplicación..	20
5: Influencia de la quer cetina sobre la producción de ERO.....	22
6: Influencia de la quer cetina sobre la producción de ERO dependientes del tiempo y concentración.	23

DEDICATORIA

A mi tío Ismael quien siempre tuvo fe en mí, aunque hoy no me acompaña siempre estará presente. A mis papás por apoyarme y amarme incondicionalmente.

A mi amada muffin por darme siempre felicidad.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Química por darme las herramientas y conocimientos para desarrollar la carrera profesional que hoy vivo.

A mis maestros por todas sus enseñanzas dentro y fuera del salón de clases, por cada momento donde se nos olvidaba el estrés y solo había risas de por medio.

Al Dr. Andrés por todo el apoyo que me brindó durante el proceso y aceptar ser mi director, a la Dra. Monse, Dr. Gracida por aceptar ser mis sinodales y su enseñanza durante mi estancia universitaria, al Dr. Madrigal por aceptar ser mi codirector.

A mis amigas, Mariem, Grecia, Ilse, Jaz y Gil, por cada momento que pasamos juntas, por ser mi refugio y apoyarme no solo en lo académico sino también por darme su amistad y cariño.

A mi novio Alejandro, por apoyarme en mis sueños y estar siempre a mi lado incondicionalmente.

A mis papás porque sin ellos no sería quien soy y no estaría donde estoy, cada triunfo mío es suyo.

RESUMEN

La biotecnología ha generado productos innovadores para enfrentar desafíos, como el control de plagas en la agricultura. *Bacillus thuringiensis* es una alternativa biológica eficaz, produciendo la proteína CRY durante la esporulación, que combate plagas al interactuar con sus membranas celulares. Se plantea que la quercetina, al influir en procesos celulares relacionados con la esporulación y el estrés oxidativo, podría aumentar la producción de la proteína CRY. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de quercetina en el crecimiento, la producción de CRY y el estrés oxidativo en *B. thuringiensis*. Se emplearon concentraciones de 0.1, 1, 10 y 100 μ M, con muestreos a las 12, 24 y 48 h. Se emplearon concentraciones de 0.1, 1, 10 y 100 μ M, con muestreos a las 12, 24 y 48 h. Se determinó que 0.1, 1 y 10 μ M favorecieron la producción de CRY, siendo 10 μ M la concentración óptima (2.973 mg/mL). En contraste, 100 μ M tuvo un efecto tóxico, inhibiendo el crecimiento y aumentando el tiempo de duplicación. También se evaluó el efecto de la quercetina en la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), usando el marcador H2DCFDA. Los resultados mostraron que 1 y 10 μ M aumentaron las ERO a las 12 h, sin afectar el crecimiento a las 24–36 h, mientras que 0.1 μ M no mostró diferencias y 100 μ M fue tóxico. A las 24 y 36 h, ninguna concentración alteró significativamente las ERO. Estos hallazgos sugieren que la quercetina, en concentraciones adecuadas, puede potenciar la producción de CRY sin comprometer el crecimiento, abriendo nuevas oportunidades para su aplicación en biotecnología agrícola.

Palabras clave: Quercetina, *Bacillus thuringiensis*, proteína CRY, esporas

I. INTRODUCCIÓN

La intervención de la biotecnología ha propiciado el progreso de productos y servicios para encontrar soluciones a través del uso de microorganismos. Son diversas las áreas donde se establecen soluciones beneficiosas, innovadoras, de bajo costo y con significativo potencial.

En el sector primario de la agricultura las plagas son consideradas como uno de los principales problemas que afectan la producción de los cultivos, causando daños, como el debilitamiento de las plantas, la devastación de los cultivos, disminución de la calidad y rendimientos, entre otros. Existe una amplia variedad de plagas que afectan los cultivos mexicanos, destacando el gusano de maguey, la mosca blanca, pulgones y Trips. Estas especies invasoras causan pérdidas económicas significativas, generando la necesidad de desarrollar herramientas o alternativas efectivas para su control, resaltando el uso de insecticidas químicos. Sin embargo, este tipo de compuestos pueden presentar efectos tóxicos a la salud y medio ambiente. El impacto negativo del uso desmedido de insecticidas químicos ha incentivado la búsqueda de alternativas asequibles, como el desarrollo de bioplaguicidas, los cuales tienen el objetivo de controlar plagas específicas, para mantener los mayores rendimientos de los cultivos.

Una de las plagas que se presenta de forma constante en una variedad de cultivos es *Aphididae* spp, comúnmente conocido como “pulgón”, exhibiendo una alta capacidad de adaptación para el desarrollo de su actividad fitófaga. Estos insectos pueden causar daños de forma directa, succionando los fotosintatos de su huésped, o de manera indirecta, eliminando las sustancias ricas en hidratos de carbono. Las

problemáticas causadas por este tipo de plagas brindan una oportunidad de estudio para contrarrestar los daños provocados de manera efectiva, sostenible, amigable con el ambiente y segura para el consumo humano.

Las soluciones propuestas van desde el control químico, físico y biológico; destacando que en los últimos años las investigaciones se han centrado en el uso de microrganismos. Algunos microorganismos al ser sometidos a condiciones de estrés presentan mecanismos de sobrevivencia como la esporulación. Esto en respuesta a una condición desfavorable, con la finalidad de conservar su material genético en forma de cuerpos microscópicos. *B. thuringiensis* es una bacteria que emplea esta forma de sobrevivencia.

Destacando que en las esporas se sintetizan proteínas con propiedades tóxicas como la proteína CRY, que presenta capacidad insecticida, esta característica puede ser una solución potencial a la problemática causada por las plagas.

En los últimos años, los estudios sobre las proteínas CRY ha dado pauta a investigaciones que permiten su evaluación para comprender su capacidad insecticida. Por lo cual, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la suplementación de quercetina sobre la producción de la proteína CRY en *B. thuringiensis*.

II. ANTECEDENTES

II .1 Relevancia de la agricultura en México

La agricultura juega un rol fundamental en la producción de insumos, el valor de esta actividad se ve reflejada en la demanda de los productos para satisfacer las necesidades alimentarias (Lira y col., 2018). Al ser una actividad económica primaria los recursos naturales son explotados con la finalidad de obtener altos rendimientos en los cultivos, sin considerar factores como la contaminación, sobreexplotación de suelos, cambio climático, entre otros (Grageda y col., 2012).

La agricultura en México es esencial para la producción de alimentos y subproductos, por lo cual, la demanda hacia los sistemas de producción se da de manera interna y externa en el comercio de los recursos producidos en el país (Cárdenas, 2021).

De acuerdo con los ámbitos de seguridad alimentaria se estima un incremento en la demanda de la producción de alimentos en un 70% para 2050, generando la necesidad de estrategias que permitan satisfacer la producción de alimentos requerida (Tomlinson, 2013). Entre las principales limitantes para el correcto desarrollo de los cultivos destacan el incremento de la temperatura global, sequías, contaminación de suelos y plagas, representando afectaciones significativas en esta actividad primaria (Sánchez y col., 2021).

II.2 Impacto del pulgón (*Aphididae spp*) sobre los cultivos

En las últimas dos décadas el impacto que han tenido las plagas en los cultivos mexicanos se refleja en reducciones que van desde un 20% hasta un 100% de la producción total; representando un valor anual en pérdidas de más de 17 millones

de dólares (Galindo, 2022). Los pulgones (*Aphididae* spp), son una de las plagas que produce pérdidas económicas significativas, debido a su capacidad para transmitir enfermedades y su adaptabilidad. Resaltando que en condiciones favorables se estimula el nacimiento de las crías y en condiciones desfavorables los huevecillos son capaces de resistir hasta que se presenten las condiciones necesarias para repetir su ciclo celular (Iribarne, 2016). Además, el pulgón se caracteriza por su alto potencial biótico, que le permite desarrollarse en grandes poblaciones en cortos periodos de tiempo llegando a invadir plantaciones de diversas variedades de cultivos causando daños en tallos, hojas, flores y frutos (Pascual, 2022). La familia *Aphididae* tiene alrededor de 5,300 especies distribuidas a nivel mundial, son transmisores de vectores patogénicos y realizan relaciones mutualistas con malezas adheridas a las plantas según el tipo de cultivo (Tomalá, 2023).

Con la finalidad de contrarrestar los estragos causados por este insecto, se han probado sistemas o productos naturales como extractos de cítricos, aceites esenciales y controles biológicos. Sin embargo, estas estrategias sólo ahuyentan temporalmente la plaga, observando un control solo durante un periodo de tiempo específico (Cañizares y col., 2024). Por lo cual, los estudios se han enfocado en el desarrollado de diversos plaguicidas enfocados en la disminución y/o eliminación del insecto a través de un mecanismo de acción químico, físico o biológico (De la Peña, 2020).

II.3 Alternativas potenciales para el control de plagas

Los plaguicidas son sustancias empleadas en diversas variedades de cultivos para el control de especies no deseadas que perjudican o interfieren con la producción.

Por lo tanto, su aplicación en cultivos se ha presentado desde el siglo XIX siendo una opción accesible y barata (Hernández y col., 2011). Sin embargo, su implementación presenta una serie de desventajas debido a sus formulaciones químicas, que incluyen reactivos tóxicos como ciertos derivados del fósforo, azufre, arsénico, entre otros (Olvera, 2023). Los inconvenientes provocados por el uso de estos plaguicidas basados en sustancias químicas se reflejan en las repercusiones nocivas para la naturaleza y las personas que hacen uso de estos. El daño al medio ambiente por el uso de plaguicidas se evidencia con la contaminación de los productos cultivados, suelos, cuerpos de agua, biota y aire (Jáquez y col., 2022).

En el mercado global existen más de 80 mil productos con actividad plaguicida, de los cuales solo el 15% han sido evaluados. Por otro lado, en México se estima que el consumo anual de productos con impacto perjudicial sea de 40% aproximadamente (García y col., 2018).

El uso desmedido de plaguicidas afecta directamente la salud humana teniendo relevantes efectos negativos sobre la misma, se ha descrito que la constante exposición a plaguicidas está relacionada con padecimientos como cáncer, Parkinson, Alzheimer, alteraciones endocrinas, problemas neurocognitivos, daño renal, entre otros (Díaz y col., 2021). Además, los consumidores de los productos expuestos a plaguicidas de manera indirecta presentan efectos secundarios, debido al contacto con los alimentos, aire, polvo y/o agua que puedan presentar residuos químicos (Ornelas y col., 2020). Basado en ello, se denota la necesidad de implementar estrategias para el control de plagas con compuestos no tóxicos y amigables con el ambiente.

El aprovechamiento de herramientas biológicas como los microorganismos, se ha presentado como una opción factible para contrarrestar la problemática del control de plagas. El microrganismo *B. thuringiensis* es una bacteria Gram positiva, adaptable, quimiorganotrofo, con actividad catalasa, capaz de fermentar sustratos como glucosa, fructosa, maltosa y ribosa (Ramírez, y col, 2018). Esta bacteria tiene una alta especificidad e inocuidad al hombre, animales y plantas; presentando una mínima residualidad, debido a su eficacia y características (Kahl-Paraná, 2015). En las últimas décadas, las investigaciones se enfocaron en *B. thuringiensis*, debido a sus componentes activos, siendo de interés para el mercado de los insecticidas, resaltando que las ventas de estos compuestos acticos representaron cerca del 2% del mercado de insecticidas a nivel mundial (García, 2014). Entre los principales compuestos activos producidos por *B. thuringiensis*, destacan los cuerpos cristalinos conocidos como δ-endotoxina o cristales parasporales con propiedades tóxicas para distintos insectos (Castañet y col., 2016).

II.4 Capacidad insecticida de la proteína CRY

La δ-endotoxina comúnmente se conoce como proteína CRY (por sus siglas del inglés CRYstal Protein) o proteína cristal, que está conformada por una serie de unidades polipeptídicas cuyos pesos moleculares oscilan entre los 27 y 140 kDa, su estructura tridimensional está conformada por tres dominios que se correlacionan con su actividad biológica (López-Cerón, 2010). El primer dominio está constituido por siete α-hélices antiparalelas, de las cuales la quinta hélice está rodeada por el resto, este dominio se considera como el promotor de la permeabilidad del intestino mediante la formación de orificios (Li y col., 2021). El segundo dominio está

conformado por tres láminas- β , con una orientación en forma de prisma, el dominio presenta una forma similar a los sitios de unión antígeno-anticuerpo (González y col., 2021). El tercer dominio está formado por dos láminas β antiparalelas, esta sección ayuda al mantenimiento de la integridad total de la toxina (Jing y col, 2010). Las toxinas compuestas por la proteína CRY se unen a proteínas receptoras localizadas en la superficie celular del intestino medio; esto interrumpe el transporte de membrana y provoca la muerte del organismo invertebrado que la consume (López, 2018). Se sugieren dos opciones del modelo molecular de acción, la primera opción sugiere la formación de poros en la membrana celular y la segunda opción sugiere un modelo por cascada de señalización que induce la apoptosis celular (Arsov y col., 2023).

Se ha demostrado que algunas de las proteínas CRY secretadas por *B. thuringiensis* actúan de manera selectiva en la muerte de algunas plagas, CRY1Ab y CRY2Ab pueden causar la muerte de *Helicoverpa armigera*, CRY1Ac/CRY3A/CRY9Ec1 son efectivas contra *Plutella xylostella* y las proteínas CRY7Aa2 actúan específicamente con *Leptinotarsa decemlineata* (Gu y col., 2021). Por lo tanto, diversas investigaciones se han centrado en la optimización de la producción de la proteína CRY.

II.5 Influencia del estrés sobre la esporulación

El proceso de esporulación de un microorganismo puede ser inducido por factores químicos, físicos o biológicos. La esporulación de *B. thuringiensis* se lleva a cabo en varias etapas: la primera es la condensación del material genético dentro de la célula; la segunda es la formación de una preespora que forma dos compartimientos donde

se segregan el ADN de la espora en desarrollo y la célula madre; la tercera fase es la aparición de un cristal paraesporal y formación de la espora; las etapas cuatro y cinco es el proceso de formación de la parte exterior de la espora y la última de las etapas es su maduración para ser secretada (Ibraim, 2012).

El proceso de esporulación funge como un mecanismo de defensa del microorganismo en respuesta a diversos tipos de estrés, sugiriendo que la estimulación de un estrés en el microorganismo favorecería la formación de esporas, los inductores químicos pueden actuar como señales que desencadenan el proceso de esporulación en un microorganismo (González y col., 2023) Existen diversos compuestos químicos como la quercentina (flavonoide), quitosana, fengicina, con actividad antimicrobiana capaz de inducir estrés celular mediante diferentes mecanismos como limitación del metabolismo respiratorio o mediante estrés oxidativo dependiente del efecto prooxidante, provocando la formación de esporas como mecanismo de defensa (Ley y col., 2022).

Los flavonoides se caracterizan por sus efectos benéficos sobre la salud, destacando sus propiedades antioxidantes, mediante mecanismos directos dependientes de la neutralización de radicales libres por la transferencia de electrones (Bhuyan y Handique, 2022). Sin embargo, se ha descrito que estos compuestos, también pueden actuar como prooxidantes (Dzah y col., 2024). Estos, se caracterizan por la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales, posteriormente estimulan los mecanismos antioxidantes en los organismos (Pérez, 2003). La quercentina en particular tiene la capacidad de formar complejos con cationes para

formar radicales libre y auto oxidarse, provocando la formación de ERO (Souza de Castilho., 2018).

Además, se ha descrito que estas moléculas están involucradas en interacciones directas con el transporte, metabolismo energético vías de señalización celular, provocando un estímulo externo en los microorganismos específico dependiente del tipo de compuesto y microrganismo (Makarewicz y col., 2021). Se ha sugerido que estos estímulos desencadenan señales intracelulares en los microrganismos induciendo cambios conformacionales y activando cascadas de señalización relacionadas con mecanismos de defensa, como la esporulación (Galicia y col, 2011).

La quercetina es un flavonoide, que se encuentra en una gran variedad de alimentos como frutas, verduras, granos y hojas, este compuesto posee propiedades antioxidantes, antiinflamatorias (Vicente y Morales, 2013). Además, se ha reportado que presenta propiedades antimicrobianas, debido a un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de bacterias Gram-positivas como *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, relacionando dicho efecto con su funcionalidad estructural e interacción de los grupos hidroxilo (Ahmad y col., 2015). De manera similar el efecto antimicrobiano de la quercetina fue reportado en especies como *Staphylococcus aureus*, la quercetina se adicionó al caldo de cultivo en concentraciones subinhibitorias de 2, 4, 8 y 16 µg/mL mostrando un efecto en la disminución de biofilms, el cual es un proceso que participa en la formación de la alfa toxina, probando tener un efecto sobre una actividad citotóxica (López y Sánchez, 2018). Otro ejemplo es el efecto inhibitorio de la quercetina en la formación de biopelículas

de *Pseudomonas aeruginosa*, se evaluó a la quercetina en combinación con otros antibióticos, reportando una reducción de la viabilidad de las células formadoras de biopelículas hasta en un 35% (Parra, 2023). Como antibiótico, la quercetina tiene un efecto inhibitorio en bacterias del género *bacillus*, los cuales son afectados por este tipo de compuestos (Nguyen y Bhattacharya, 2022). En el metabolismo respiratorio de *B. thuringiensis*, la formación de ERO tiene efecto sobre la cadena respiratoria interfiriendo con la producción de moléculas como adenosín trifosfato (ATP), cuando el *Bacillus* entra en un estado de estrés comienza su proceso de esporulación como mecanismo de defensa y por consecuencia la formación de ciertos productos que le ayudan en la preservación de su material genético, para el caso de *B. thuringiensis*, la formación de esporas (Sánchez y col, 2016).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es evaluar el efecto del estrés causado por la suplementación de quercetina sobre la producción de la proteína CRY en *B. thuringiensis*.

III. HIPÓTESIS

La suplementación con quercetina inducirá estrés oxidativo debido a su efecto prooxidante y aumentará la producción de la proteína CRY en *Bacillus thuringiensis* mediante la acción señalizadora de las especies reactivas de oxígeno.

IV. OBJETIVOS

IV.1 General

Evaluar la influencia de la suplementación con quercetina sobre el crecimiento celular, el estrés oxidativo y la producción de la proteína CRY en *Bacillus thuringiensis*.

IV.2 Específicos

- Evaluar la influencia de la suplementación de quercetina sobre el crecimiento celular de *Bacillus thuringiensis*.
- Determinar la influencia de la suplementación de quercetina sobre el estrés oxidativo en *Bacillus thuringiensis*.

V. METODOLOGÍA

V.1 Materiales

V.1.1. Material Biológico

El modelo de estudio propuesto es la bacteria *Bacillus thuringiensis* 558 HO73, proporcionada por el Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA-IPN), ubicado en Tlaxcala, México.

V.1.2. Medio de cultivo

Para el desarrollo de los experimentos se empleó medio nutritivo qué consiste en (g/L) peptona (5), extracto de carne (1) y extracto de levadura (2).

V.1.3. Activación de la cepa

La cepa de *Bacillus thuringiensis* se activó en caja Petri con medio nutritivo, por medio de estriado, las cajas se incubaron a 30 °C durante 24 h.

V.2 Métodos

V.2.1. Curva de Crecimiento

El análisis de la influencia de la quercetina sobre el crecimiento celular, se realizó mediante cinéticas de crecimiento. Se creció la cepa activa de *Bacillus thuringiensis* en 3 mL de medio nutritivo durante 12 h con agitación constante a 30 °C. Posteriormente, se inoculó un matraz Erlenmeyer de 250 mL que contenía 20 mL de medio de cultivo suplementados con diferentes concentraciones de quercetina (0.1,

1, 10 y 100 μM) y se incubó a 30°C, con agitación constante durante 12 h, realizando lecturas de absorbancia a 600nm cada hora. Posteriormente se calculó la velocidad específica de crecimiento empleando la ecuación de crecimiento exponencial (Ecu, 1) y se calculó el porcentaje de crecimiento celular (Ecu, 2).

Ecuación 1: Velocidad específica de crecimiento (μ)

$$\mu = \frac{\ln(X_t / X_0)}{t}$$

Donde:

- X_t es la concentración celular en el tiempo t
- X_0 es la concentración celular inicial (en el tiempo $t=0$),
- \ln es el logaritmo natural.

Ecuación 2: Porcentaje de crecimiento celular

$$\% \text{ Crecimiento celular} = \frac{(\mu \text{ quer cetina})}{(\mu \text{ control})} \times 100$$

Donde:

- $\mu \text{ quer cetina}$ es la velocidad específica de crecimiento de las células suplementadas con quer cetina.

- $\mu_{control}$ es la velocidad específica de crecimiento de las células no suplementadas (control).

V .2.2 Evaluación de la suplementación de quercetina sobre el estrés oxidativo

La evaluación sobre la generación de ERO se realizó empleando diacetato de 2',7'-dclorodihidrofluoresceína (H₂DCFDA; Merck). *B. thuringiensis* se creció en medio nutritivo y se incubó 12 h a 30 °C, con agitación constante. Posteriormente, se inocularon matraces de 25 mL que contenían 5 mL de medio nutritivo suplementado con quercetina (0.1,1 y 10 µM) e incubaron a 30 °C con agitación constante, por 36 h, tomando una muestra cada 12 h. En seguida, se cosecharon 2×10^7 células a 3000 g de fuerza centrífuga durante 3 min y se desechó el sobrenadante (conservando en el tubo 200 µL de medio aproximadamente, para asegurarse de que las células no se deshidraten o pierdan material durante el proceso de centrifugación), se homogenizaron las células y se les adicionó 4 µL H₂DCFDA (5 mg/mL). Las células se incubaron durante 1 h a 28 °C con agitación moderada. Posteriormente, las células se recolectaron a 3000 g de fuerza centrífuga durante 3 min, se lavaron 2 veces con 500 mL de solución salina de fosfatos (PBS) y se resuspendieron en 200 µL de PBS. En seguida se transfirieron 150 µL de células suspendidas a un pozo de una microplaca (negra de 96 pozos) y se midió la fluorescencia empleando un lector de microplacas (Varioskan Flash, Thermo Scientific) a una longitud de onda 484 ± 10 nm (excitación) y 518 ± 10 nm (emisión) (Sinha & Pick, 2021).

V.3 Análisis estadístico

Se realizaron un mínimo de tres experimentos biológicos independientes por duplicado. Los resultados obtenidos se analizaron empleando un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett, considerando como grupo de referencia el control sin suplementación. El análisis se realizó con un nivel de significancia de $p < 0.05$, empleando los programas estadísticos Minitab y GraphPad Prism.

VI. RESULTADOS

VI.1. Curva de crecimiento

La curva muestra una fase de adaptación en las primeras 3 horas, seguido de una fase de crecimiento exponencial de las 4 y 11 h, destacando que a partir de la 6 h se presenta una etapa de desaceleración en el crecimiento celular (Fig. 1).

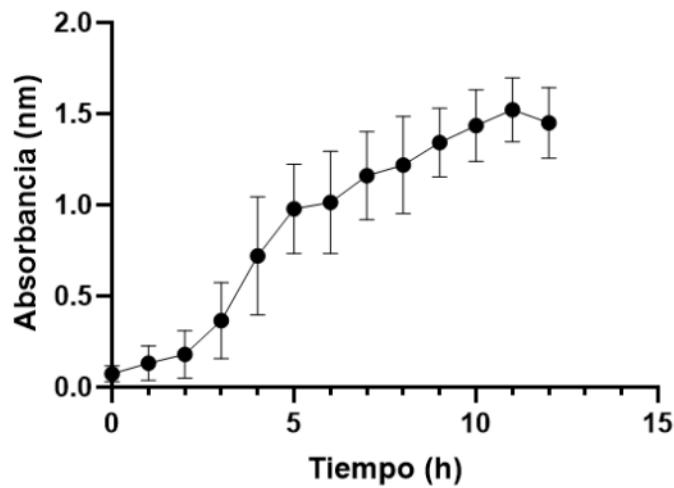


Figura 1.- Curva de crecimiento celular de *Bacillus thuringiensis*. Curva de crecimiento en medio nutritivo a 30 °C con agitación constante; la absorbancia se determinó a 600 nm cada hora durante 12 h. Las barras indican la desviación estándar de tres experimentos independientes. Después de 1.0 de absorbancia las medidas no son fiables de acuerdo con la ley Lamber-Beer.

VI.2. Curva de crecimiento suplementando diferentes concentraciones de Quercetina

Una vez determinada la curva de crecimiento, se evaluó el efecto de la suplementación de quercetina sobre su crecimiento. *B. thuringiensis* creció en medio nutritivo suplementado con cuatro concentraciones diferentes de quercetina (0.1, 1, 10 y 100 μ M), así como su control sin quercetina (Fig. 2). Los resultados no mostraron cambios significativos en las curvas de crecimientos celular, resaltando que el control y las células suplementadas con 0.1, 1 y 10 μ M, presentaron curvas de crecimiento bacteriano similares alcanzando valores máximos de DO_{600} cercanos a 1.5. Por su parte, la muestra tratada con 100 μ M exhibió un efecto negativo sobre el crecimiento celular de *B. thuringiensis*. El análisis estadístico indicó que al menos

uno de los tratamientos afecta significativamente la velocidad de crecimiento (Cuadro A2).

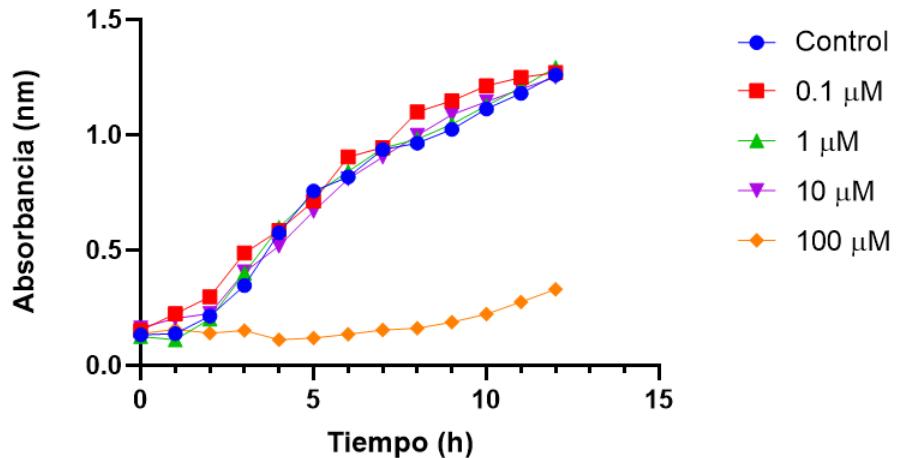


Figura 2.- Efecto de la quercetina sobre el crecimiento celular de *B. thuringiensis*. Se muestra la dinámica de crecimiento bacteriano por la suplementación con distintas concentraciones de la quercetina (0.1 μ M, 1 μ M, 10 μ M y 100 μ M) empleando medio nutritivo, incubado a 30 °C con agitación continua.

El análisis de la velocidad máxima de crecimiento se basó en valores del eje X que representan las diferencias entre la media de cada tratamiento y la media del grupo control. Como se puede observar, los intervalos de confianza de las concentraciones evaluadas incluyen el 0 (control), lo que sugiere que no se generó un efecto significativo respecto al control, lo que sugiere que estas concentraciones no generaron un efecto significativo respecto al control. Por otra parte, la concentración de 100 μ M muestra un efecto significativo en comparación al control, su amplitud de intervalos es mayor a la del resto de las concentraciones, lo que indicó mayor variabilidad en los datos obtenidos (Fig. 3).

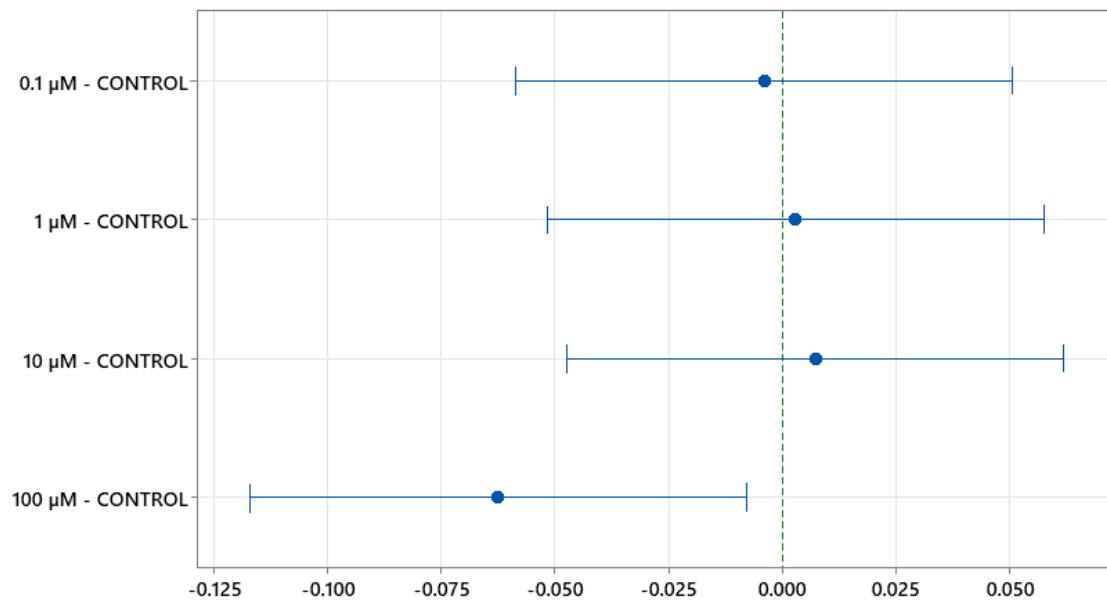


Figura 3.- Influencia de la suplementación de quercetina sobre la velocidad máxima de crecimiento de *B. thuringiensis*. Se calculó la velocidad máxima de crecimiento de *B. thuringiensis* crecida en medio nutritivo suplementado con 0.1, 1, 10 y 100 μM de quercetina. La suplementación de 0.1, 1, 10 μM no presentaron diferencias significativas respecto al control; mientras que 100 μM mostró una influencia negativa en comparación con el control ($P = 0.0229$). Se presenta un gráfico de la prueba de *Dunnett's* ($p \leq 0.05$).

Otro factor que se tomó en cuenta para el análisis estadístico fue el tiempo de duplicación, debido a que esta variable refleja la eficiencia con las que las células se dividen. El tiempo de duplicación es inversamente proporcional a la velocidad de crecimiento, un valor menor indica que las células se dividen más rápido y un tiempo de duplicación mayor indica que el organismo prensa una duplicación lenta. Este parámetro también puede proporcionar información sobre la influencia de la quercetina sobre el crecimiento celular.

Los análisis muestran que los intervalos de confianza para las concentraciones probadas abarcan el 0 (control), lo que indica que estas concentraciones no generan

influyen sobre el crecimiento en comparación con el tiempo de duplicación. Cómo se describió anteriormente los valores del eje X representan las diferencias entre la media de cada tratamiento y la media del grupo control, mientras que los intervalos mostrados corresponden a estimaciones ajustadas por Dunnett's para comparar cada tratamiento con el control.

No obstante, la concentración de 100 μM muestra un efecto significativo en comparación con el control, ya que su intervalo no cruza el 0. Además, la amplitud de su intervalo es mayor que la del resto de las concentraciones, lo que indica una mayor variabilidad en los datos obtenidos (Fig. 4).

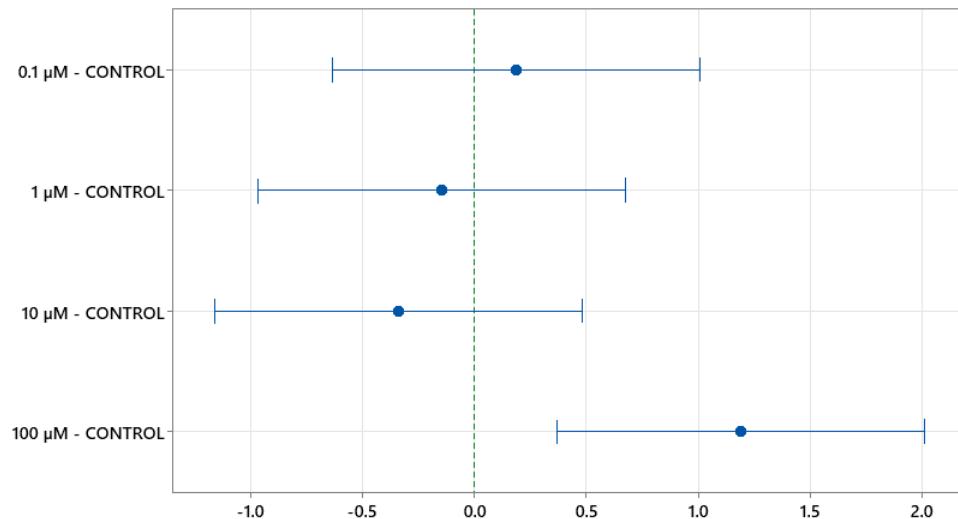


Figura 4.- Influencia de la suplementación de quercetina sobre el tiempo de duplicación de *B. thuringiensis*. Se calculó el tiempo de duplicación de *B. thuringiensis* crecida en medio nutritivo suplementado con 0.1, 1, 10 y 100 μM de quercetina. La suplementación de 0.1, 1, 10 μM no presentaron diferencias significativas respecto al control; mientras que 100 μM mostró una influencia sobre el incremento del tiempo de duplicación ($P = 0.003$). Se presenta la desviación estándar de tres experimentos independientes, analizados mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett's versus control ($p \leq 0.05$). ANOVA, análisis de varianza; ns, no significativo.

Con la finalidad de analizar la influencia de la suplementación de quercetina (0.1, 1 y 10 μ M) sobre el estrés oxidativo, se optó por realizar un análisis de la generación de ERO empleando diacetato de 2',7'-dclorofluoresceína (H_2DCFDA) en diferentes tiempos del crecimiento celular (12, 24 y 36 h). Los resultados mostraron que a las 12 h la suplementación de quercetina (1 y 10 μ M) influye de manera positiva sobre la generación de ERO en comparación con el control. Sin embargo, la suplementación de 0.1 μ M, no muestra diferencias en comparación con el control. De manera similar la suplementación de quercetina (0.1, 1 y 10 μ M) no influye sobre la generación de especies en comparación con el control a las 24 y 36 h (Fig. 6).

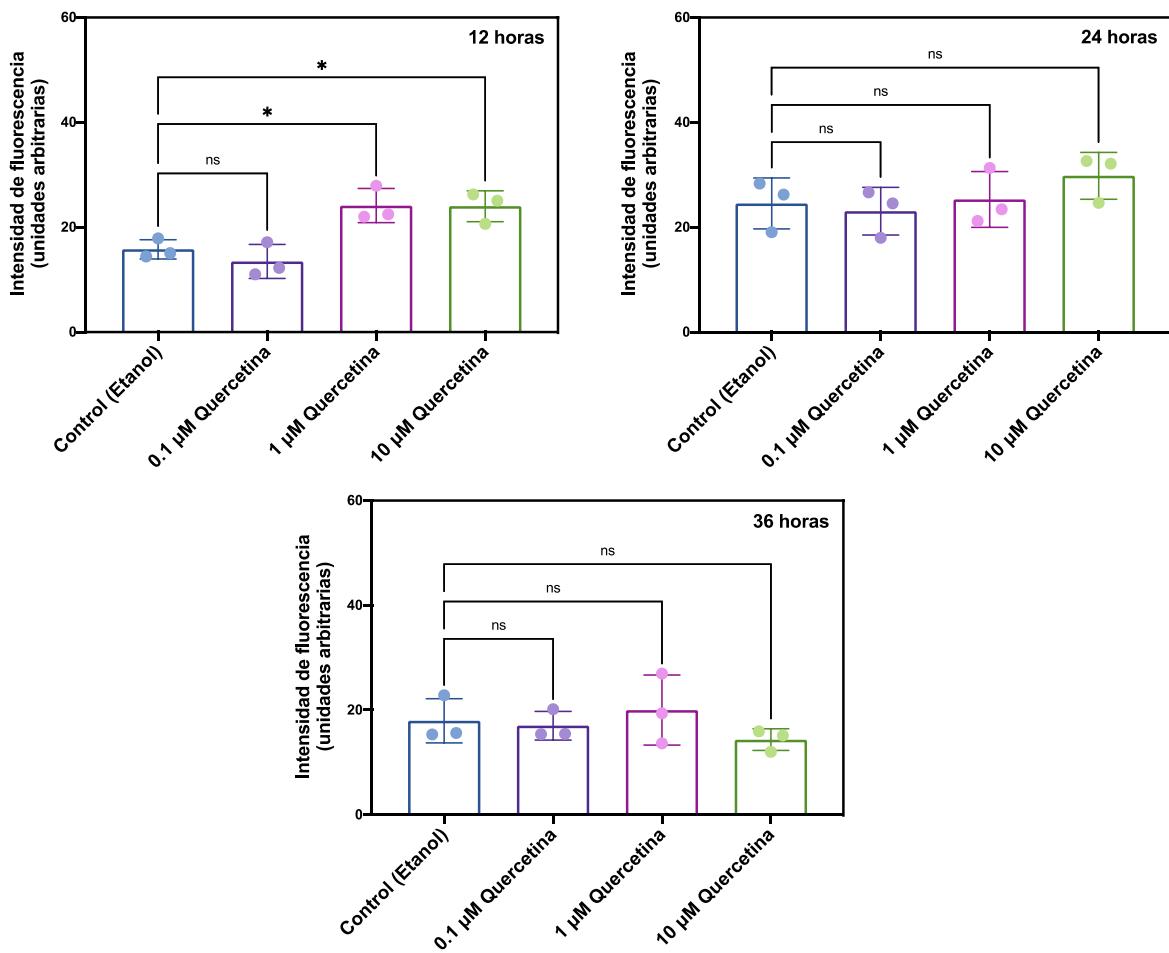


Figura 5.- La suplementación de quercetina altera la generación de ERO en *B. thuringiensis*. Se evaluó el efecto de la suplementación de quercetina (0.1, 1 y 10 μ M) sobre la generación de ERO a las 12, 24 y 36 horas en *Bacillus thuringiensis* crecida en medio nutritivo a 30 °C, con agitación constante. Se muestra la desviación estándar de tres experimentos independientes, analizados empleando ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett's versus control (* $p \leq 0.05$).

ANOVA, análisis de varianza; ns, no significativo.

Además, los resultados muestran que el control y la suplementación de quercetina (1 μ M) no presenta cambios en la generación de ERO durante las 12, 24 y 36 h. Por su parte la suplementación de 1 μ M de quercetina influyó de manera positiva sobre

la producción de ERO a las 24 h. Mientras que la suplementación de quercetina (10 μ M) influyó de manera negativa sobre la producción de ERO a las 36 h (Fig. 7).

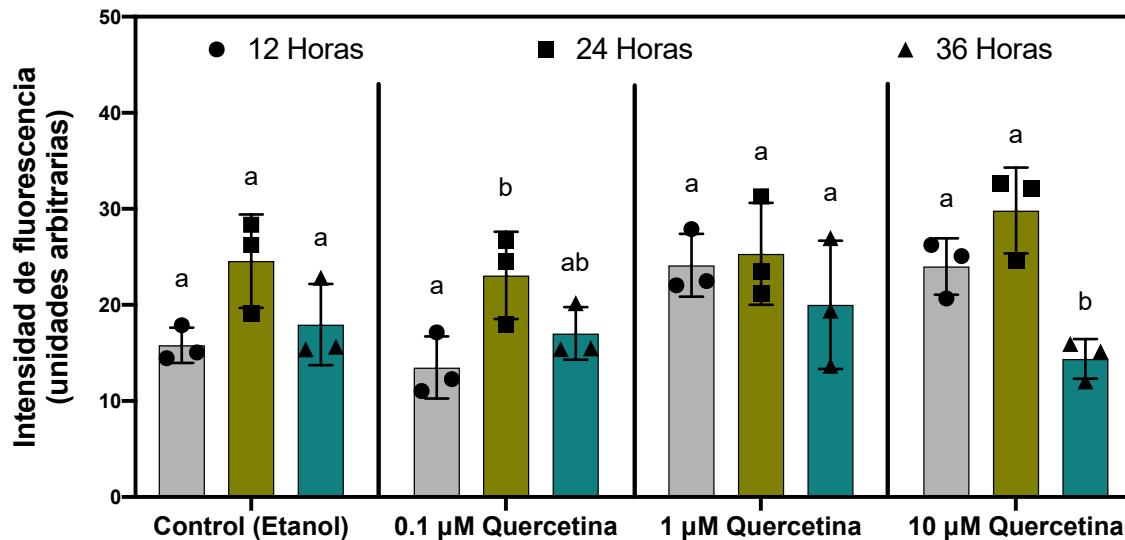


Figura 6.- La suplementación de quercetina influye sobre la generación de ERO dependiente del tiempo y concentración en *B. thuringiensis*. a lo largo del tiempo. Se evaluó el efecto de la quercetina (0.1, 1 y 10 μ M) sobre la producción de ERO en *B. thuringiensis* a las 12, 24 y 36 horas de crecimiento en medio nutritivo a 30 °C, con agitación constante. Se presenta la desviación estándar de tres experimentos independientes, analizados mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett's versus control (* $p \leq 0.05$). ANOVA, análisis de varianza; ns, no significativo.

Con la finalidad de evaluar si el incremento de ERO, observado a las 12 h, por la suplementación de quercetina (0.1, 1 y 10 μ M), las concentraciones de 1 y 10 μ M influían sobre la esporulación se realizaron tinciones a las 12, 24 y 36 h, con el objetivo de observar y analizar el impacto de los períodos de incubación prolongados. Las muestras se encontraban en condiciones de 200 rpm a 30 °C.

Para las tinciones realizadas, se muestran resultados cualitativos de *B. thuringiensis* bajo las diferentes concentraciones experimentales. (Cuadro 2). El Panel A-C (Control): Se observa un crecimiento progresivo con el tiempo, alcanzando una alta densidad bacteriana a las 36 h (C), con una distribución uniforme y formación de redes bacterianas. El Panel D-F (0.1 μ M): En las primeras horas (D y E), el crecimiento es bajo, pero a las 48 h (F) la densidad bacteriana es similar a la del control, indicando que esta concentración no inhibe el crecimiento. El Panel G-I (1 μ M): Se observa un crecimiento bacteriano en aumento. A las 12 h (G) hay pocas bacterias visibles, pero a las 24 (H) y 36 h (I) la densidad es alta, comparable al control, lo que sugiere que esta concentración tampoco afecta significativamente la proliferación. El Panel J-L (10 μ M): Presenta un crecimiento similar al control. A las 12 h (J) la densidad es baja, pero a las 24 h (K) ya es evidente el aumento de bacterias. A las 48 h (L) la densidad celular es alta, indicando que esta concentración no inhibe el crecimiento. El Panel M-O (100 μ M): Se observa una reducción notable en el crecimiento. A las 12 h (M) hay pocas bacterias y a las 24 h (N) la densidad sigue siendo baja. A las 36 h (O) hay una disminución significativa en la cantidad de bacterias, lo que sugiere un efecto inhibitorio del tratamiento a esta concentración.

	12 HORAS	24 HORAS	36 HORAS
CONTROL			
0.1 µM			
1 µM			
10 µM			
100 µM			

Cuadro 2: Crecimiento de *Bacillus thuringiensis* a distintas concentraciones de querctina (01, 1, 10, 100 µM) durante diferentes tiempos de incubación (12, 24, 36 h). Cada conjunto de paneles (A–O) representa la morfología y densidad bacteriana observada en microscopía para un tratamiento específico, permitiendo comparar el efecto del tiempo y la concentración sobre el crecimiento.

VII. DISCUSIÓN

B. thuringiensis es una bacteria con capacidad insecticida, debido a la producción de la proteína CRY en sus esporas. La esporulación de *Bacillus thuringiensis* puede ser alterada por la exposición a estrés, diversos factores pueden influir sobre la inducción del estrés celular (Rosamel y Carolina, 2023). Entre los cuales, se encuentran compuestos como la quercetina, un flavonoide con propiedades antimicrobianas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de quercetina sobre la esporulación dependiente del estrés oxidativo en *B. thuringiensis*.

La cinética de crecimiento observada en el estudio reveló patrones característicos que se alinean con los modelos de crecimiento microbiano. Durante la fase de latencia, las células se adaptaron al medio de cultivo, mostrando una actividad metabólica inicial, sin incremento significativo en la biomasa. Este comportamiento es consistente con estudios previos en los que *B. thuringiensis* tarda un periodo inicial en sintetizar las enzimas necesarias para aprovechar los nutrientes disponibles (Escalante, 2018). La adaptación al medio es un proceso cuyo tiempo puede variar entre especies de *Bacillus*. Por ejemplo, especies como *B. cereus* y *B. pumilus* presentan una fase lag más corta, mientras que otras, como *B. subtilis*, pueden requerir hasta 4 h para adaptarse al entorno (Álvarez y Sánchez, 2016). Sin embargo, es la fase estacionaria donde se produjo la mayor cantidad de esporas siendo esta una respuesta al agotamiento de nutrientes, debido a ello en esta evaluación se tomó una muestra a las 36 h de incubación, la formación completa de esporas a partir de las 19 h de incubación y su liberación entre las 22 y 24 h, lo que indicó que el tiempo

seleccionado para la toma de muestra es adecuado asegurando su presencia (Hernández, 2014).

Para los tratamientos suplementados con quercetina, se requirieron cantidades que no fueran inhibitorias para *B. thuringiensis*, con la finalidad de generar un estrés oxidativo sin afectar su crecimiento celular, se ha reportado el uso de quercetina para inhibición de hongos usando concentraciones de 2.4 g/L mostrando un efecto de inhibición del 80% usada en varias cepas de *Aspergillus flavus* (Vázquez, 2016). Por otro lado, la quercetina usada sobre microorganismos puede llegar a comprometer la integridad de la membrana celular bacteriana, lo que resulta en la inhibición del crecimiento de las bacterias (Elizondo y col, 2020). Se reportó que el efecto bacteriostático de la quercetina en *E. y coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica Typhimurium* y *S. aureus*, presentando una mayor influencia sobre bacterias Gram-positivas, alterando las paredes celulares y membranas en concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) de $50 \times$ MIC para *E. y coli* y $10 \times$ MIC para *S. aureus*. Además, se destaca que la actividad antimicrobiana de flavonoides tiene mayor efecto en bacterias Gram-positivas en comparación a las bacterias Gram-negativas (Wang y col, 2018; Osonga y col. 2019).

En este estudio, el uso de quercetina en *B. thuringiensis* sugiere que, en concentraciones de 0.1, 1 y 10 μ M de quercetina, podría favorecer el crecimiento celular, dependiente de un estrés oxidativo, sin afectar su crecimiento celular característico. A excepción de la suplementación con 100 μ M de quercetina que mostró un efecto inhibitorio. El estrés oxidativo es un desequilibrio a corto y largo

plazo entre antioxidantes y prooxidantes. La prooxidación se refiere al proceso en el que ciertas moléculas, pueden promover la generación de ERO en lugar de neutralizarlas (Colina, 2018). Cuando la generación de ERO no se regula adecuadamente, estos compuestos pueden desencadenar un fenómeno conocido como estrés oxidativo (Escarza y López, 2020).

Los resultados de la suplementación con quercetina (1 y 10 μ M) mostraron un incremento en la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) a las 12 h, lo que sugiere un estrés oxidativo dependiente, un posible efecto prooxidante por la suplementación de quercetina (Ortega y col, 2017). Cabe destacar que, a las 24 y 36 h, no se observaron diferencias significativas respecto a el control. Lo cual, podría estar relacionado con una respuesta adaptativa de *B. thuringiensis*, dependiente de la activación de mecanismos antioxidantes que regulan la producción y/o neutralización de ERO (Velásquez y Cerón, 2018). El estrés oxidativo está relacionado con la transferencia de electrones que ocurren dentro de las células como las de la cadena respiratoria, generando ERO, estas especies incluyen aniones super óxidos ($O_2^- + 1e^-$), peróxido de hidrógeno ($H_2O_2 + 2e^-$) y radicales hidroxilos (HO) (Carvajal, 2019). Los niveles altos de ERO pueden provocar daños en la membrana o provocar muerte celular, por ello la mayoría de los organismos contienen sistemas enzimáticos que ayudan a regular el estrés oxidativo (Johnson y Hug, 2019). Los mecanismos de esporulación de *B. subtilis*, siendo Spo0A regulador clave que inducen la esporulación (Li y col., 2024). En su forma fosforilada se une a una región específica del ADN denominada "0A-Box" y funciona como un regulador transcripcional, reprimiendo la expresión de algunos genes activos durante la fase

vegetativa y, al mismo tiempo, activando genes relacionados con el proceso de esporulación (Molle y col., 2003).

VIII. CONCLUSIÓN

Los tratamientos suplementados con quercetina en concentraciones de 0.1, 1 y 10 limitaron el crecimiento celular bacteriano. Sin embargo, la suplementación de 100 μM de quercetina inhibió el crecimiento y aumentó el tiempo de duplicación, sugiriendo un efecto tóxico. Además, se observó que la quercetina promueve la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) en las primeras horas de crecimiento, lo que podría estar relacionado con su efecto prooxidante, generando un estrés oxidativo en las células que podría influir sobre el crecimiento celular de *B. thuringiensis*. En general, la quercetina podría ser una opción potencial en la producción de proteína CRY en sus esporas, de manera dependiente de la concentración empleada y del tiempo de exposición.

IX. REFERENCIAS.

Ahmad, A., Kaleem, M., Ahmed, Z., Shafiq, H. (2015). Potencial terapéutico de los flavonoides y su mecanismo de acción contra las infecciones microbianas y virales: una revisión. *Alimentos Res. Int.* 77, 221–235. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.021>

Álvarez, E. C., & Sánchez, L. C. (2016). Evaluación del crecimiento de cuatro especies del género *Bacillus* sp., primer paso para entender su efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. *Nova*, 14(26), 53-62.

Anand. D. V. A., Arulmoli, R., & Parasuraman, S. (2016). Resumen de la importancia biológica de la querctina: Un flavonoide bioactivo. *Pharmacognosy Reviews/Bioinformatics Trends/Pharmacognosy Review*, 10(20), 84. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.194044>

Arsov, A., Gerginova, M., Paunova-Krasteva, T., Petrov, K., y Petrova, P. (2023). Múltiples genes CRY en la cepa BTG de *Bacillus thuringiensis* sugieren una actividad insecticida de amplio espectro. *Revista internacional de ciencias moleculares*, 24(13), 11137. <https://doi.org/10.3390/ijms241311137>

Aragosa, A., Specchia, V., & Frigione, M. (2020). PHB producido por bacterias presentes en el suelo del campo de argán: Una nueva perspectiva para la síntesis del polímero de base biológica. *Actas (MPDI)*, 69(1), 5. <https://doi.org/10.3390/cgpm2020-07226>

Asas, C., Llanos, C., Matavaca, J., y Verdezoto, D. (2021). El lactosuero: impacto ambiental, usos y aplicaciones vía mecanismos de la biotecnología. *Dialnet*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8085141>

Bhuyan, U., & Handique, J. G. (2022). Polifenoles vegetales como potentes antioxidantes: Destacando el mecanismo de actividad antioxidante y síntesis/desarrollo de algunos conjugados de polifenoles. En *Productos naturales bioactivos* (pp. 243–266). *Elsevier*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91250-1.00006-9>.

Cañizares, C., Chasi Benavides Arly Yamilex (2024); Efecto de la aplicación de extractos vegetales en la producción de plántulas de cucurbitáceas (*Cucumis sativus L.* y *Cucumis melo L.*). UTC. La Maná. 81 p. repositorio.utc.edu.ec

Carillo-Soto, J. G. (2012). Evaluación de Procedimientos de Tinción para el Análisis de Proteínas por Electroforesis (SDS-PAGE). <http://hdl.handle.net/20.500.12984/2145>

Castañet-Martínez, C. E., y Moreno-Reyes, S. (2016). *Bacillus thuringiensis*: Características y uso en el control de *Aedes aegypti*. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(3), 37-42. [223152661006.pdf \(redalyc.org\)](https://redalyc.org/pdf/223152661006.pdf).

Carvajal, C. C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Revista Médica Legal de Costa Rica*, 36(1), 2215-5287. Recuperado 26 de febrero de 2025, de [Microsoft Word - Especies oxidativas oxigeno.docx](https://www.microsoft.com/pt-br/word/2019/oxigeno-oxidativas.docx)

Colina C, C. (2018). Evaluación de las propiedades antiinflamatorias, antioxidantes e hipolipidémicas de cebolla procesada como ingrediente funcional in vitro y en modelo animal [Tesis de doctorado, Universidad Complutense de Madrid]. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/172490/1/evaluacebollmodel.pdf?utm>.

Cruz-Cárdenas, C. I., Molina, L. X. Z., Cancino, G. S., De Los Santos Villalobos, S., Rojas-Anaya, E., Díaz, I. F. C., y Ramírez, S. R. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(5), 899-913. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2905>

De Castilho, T. S., Matias, T. B., Nicolini, K. P., & Nicolini, J. (2018). Estudio de la interacción entre iones metálicos y quercetina. *Ciencia de los alimentos y bienestar humano*, 7(3), 215–219. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.08.001>

De La Peña Ana Cristina, C. (2020). Propuesta de mejora para elaborar insecticidas orgánicos en una comercializadora y productora de granos y hortalizas en Valle de Santiago, México. <https://repositorio.iberoleon.mx/items/802bb04f-196c-4165-9da3-52df08d0eb1b>

Delmas-Mata, J. T., Ruiz-Nájera, R. E., Márquez-Benavides, L., Ulibarri, G., y Sánchez-Yáñez, J. M. (2021). Enriquecimiento de un suelo agrícola estéril en la germinación de esporas de *Bacillus thuringiensis* de diverso origen de aislamiento. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 12(2), 79-86. <https://doi.org/10.36610/j.jsars.2021.120200079>

Deng, C., Peng, Q., Song, F., & Lereclus, D. (2014). Regulación de la expresión de genes CRY en *Bacillus thuringiensis*. *Toxinas*, 6(7), 2194–2209. <https://doi.org/10.3390/toxins6072194>

Díaz-Vallejo, J. J., Barraza-Villarreal, A., Yáñez-Estrada, L., y Hernández-Cadena, L. (2021). Plaguicidas en alimentos: riesgo a la salud y marco regulatorio en Veracruz, México. *Salud Pública De México*, 63(4), 486-497. <https://doi.org/10.21149/12297>

Escalante Sánchez, A. (2018). Espectroscopía dieléctrica y redes neuronales para el monitoreo en línea de cultivos de *Bacillus thuringiensis*. CINVESTAV, Unidad Zácatenco. [CINVESTAV – Departamento de Biotecnología y Bioingeniería](#).

Escarza, J. M. O., & López, M. E. M. (2020). Estrés oxidativo ¿un asesino silencioso? *Educación Química*, 31(1), 2. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2020.1.6970>.

Galeano-Mendoza. M. G., (2022). Impacto geoespacial de especies invasoras en la agricultura mexicana: la próxima amenaza a la seguridad alimentaria. *Revista Inclusiones*, noviembre, 127-51. <https://www.revistainclusiones.org/index.php/inclu/article/view/3227>.

García-Hernández, J., Leyva-Morales, J. B., Martínez-Rodríguez, I. E., Hernández-Ochoa, M. I., Aldana-Madrid, M. L., Rojas-García, A. E., y Perea-Ríos, J. H. (2018). Estado actual de la investigación sobre plaguicidas en México. CONACYT. <http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/1085>

Dzah, C. S., Zhang, H., Gobe, V., Asante-Donyinah, D., & Duan, Y. (2024). Propiedades antioxidantes y prooxidantes de los polifenoles y su papel en la modulación de la síntesis de glutatión, la actividad y el potencial redox celular: sinergias potenciales en el tratamiento de enfermedades. Avances en la investigación redox: *Revista oficial de la Sociedad de Biología y Medicina Redox y de la Sociedad para el Estudio de los Radicales Libres - Europa. - Europa*, 11(100099), 100099. <https://doi.org/10.1016/j.arres.2024.100099n>

Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J. J., y Vera-Nuñez, J. A. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(6), 1261–1274. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342012000600015y script=sci_arttext

Elizondo-Luévano, J. H., Hernández-García, M. E., Pérez-Narváez, O. A., Castro-Ríos, R., & Chávez-Montes, A. (2020). Berberina, curcumina y quercetina como potenciales agentes con capacidad antiparasitaria. *Revista de biología tropical*, 68(4), 1241–1249. <https://doi.org/10.15517/rbt.v68i4.42094>

Galicia-Jiménez, M. M., Sandoval-Castro, C., Rojas-Herrera, R., & Magaña-Sevilla, H. (2011). Quimiotaxis bacteriana y flavonoides: perspectiva para el uso de probióticos. *Agroecosistemas tropicales y subtropicales*, 14(3), 891-900. [Quimiotaxis bacteriana y flavonoides: perspectivas para el uso de probióticos](#)

González, M. S. M. (2023). Plaguicidas persistentes en los alimentos: situación en México. Universidad Autónoma de Querétaro. Recuperado el 10 de abril de 2025, de <https://ring.uag.mx/handle/123456789/9685>

González-León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., & Mercado-Flores, Y. (2023). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25(1), 1-14.

Gonzalez-Vazquez, M. C., Vela-Sanchez, R. A., Rojas-Ruiz, N. E., & Carabarin-Lima, A. (2021). Importancia de las proteínas CRY en la biotecnología: inicialmente un bioinsecticida, ahora un adyuvante de vacunas. *Life*, 11(10), 999. <https://doi.org/10.3390/life11100999>.

Gu, J., Ye, R., Xu, Y., Yin, Y., Li, S., y Chen, H. (2021). Panorama histórico de los sistemas de análisis de las proteínas CRY de *Bacillus thuringiensis* (BT). *Revista de Microquímica*, 165, 106137. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106137>.

Hernández-Antonio, A., y Hansen, A. M. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas Agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(2), 115-127. [Uso de plaguicidas en dos zonas Agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos \(scielo.org.mx\)](#)

Hernández-Guzmán, C. (2014). Optimización de las condiciones de cultivo para mejorar el rendimiento de producción y purificación de las proteínas CRY en *Bacillus thuringiensis*. [Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica Y Educación Superior de Ensenada]. <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/622/1/235011.pdf>

Ibrahim, A. (2012) Evaluación de la bacteria transformada *Paenibacillus polymyxa*, que expresa la toxina CRY1C de *Bacillus thuringiensis*, como bioinsecticida y biofertilizante en algodón. (Tesis de Doctorado, Universidad de Cordoba). <http://hdl.handle.net/10396/8135> . Iribarne, M. (2016). Productos naturales para el control de *Rhopalosiphum padi* L.(Hemiptera: Aphididae) en cebada (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata). <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/58346>

Jáquez-Matas, S. V., Pérez-Santiago, G., Linares, M., y Pérez-Verdín, G. (2022). Impactos económicos y ambientales de los plaguicidas en cultivo de maíz, alfalfa y nogal en Durango, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, SciElo. <https://doi.org/10.20937/rica.54169>

Johnson, L. A., & Hug, L. A. (2019). Distribución de los mecanismos de defensa frente a las especies reactivas del oxígeno en las bacterias de dominio. Biología y medicina de los radicales libres, 140, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.03.032>

Jing, X., Yuan, Y., Wu, Y., Wu, D., Gong, P., & Gao, M. (2018). Estructura cristalina de la toxina CRY7Ca1 de *Bacillus thuringiensis* activa contra Locusta migratoria manilensis. *Ciencia de las proteínas*, 28(3), 609-619. <https://doi.org/10.1002/pro.3561>

Kahl, M. B., & Paraná, A. C. I. E. (2015). Principales características de los insecticidas utilizados en el cultivo de soja. *Serie Extensión Digital. Segundo Trimestre. EEA Paraná. INTA*, 5, 31-50.

Li, C., Liu, Z., Zhao, J., & Zhao, Z.-M. (2024). Mecanismos y estrategias de regulación de la esporulación y germinación de *Bacillus subtilis* para potenciar los efectos probióticos. *Cultivos y productos industriales*, 220(119178), 119178. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119178>

Liu, L., Li, Z., Luo, X., Zhang, X., Chou, S. H., Wang, J., & He, J. (2021). ¿Cuál es más fuerte? Una batalla continua entre las toxinas CRY y los insectos. *Fronteras de la microbiología*, 12, 665101. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.665101>

Lira-Saldivar, R. H., Méndez Argüello, B., De los Santos Villarreal, G., y Vera Reyes, I. (2018). Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*, 28(2), 9-24. <https://doi.org/10.15174/au.2017.1575>.

López-Pazos, S. A., y Cerón, J. (2010). Proteínas CRY de *Bacillus thuringiensis* y su interacción con y coleópteros. *Nova*, 8(14). <https://doi.org/10.22490/24629448.449>

Ley-López, N., Heredia, J. B., Martín-Hernández, C. S., Ibarra-Rodríguez, J. R., Angulo-Escalante, M. Á., y García-Estrada, R. S. (2022). Biosíntesis inducida de fengicina y surfactina en una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* con actividad oomicetida sobre zoosporas de *Phytophthora capsica*. *Revista Argentina Microbiología*, 54(3), 181-191. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.03.002>

López Molina, S. (2018). Estudio de la interacción entre las toxinas de *Bacillus thuringiensis* CRY y Cyt in vivo en larvas de mosquitos. <http://repositorio.digital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/handle/123456789/3362>

López, G. C., y Sánchez, C. A. C. (2018). Quercetina atenúa la virulencia de *Staphylococcus aureus* al disminuir la secreción de alfa toxina. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2), 131-135. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.07.002>.

Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., y Vázquez-Montoya, E. L. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 8(3). <https://uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-25articulosPDF/3%20NAVA-PEREZ.pdf>.

Nguyen, T. L. A., & Bhattacharya, D. (2022). Actividad antimicrobiana de la quercetina: Una aproximación a su principio mecanístico. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(8), 2494. <https://doi.org/10.3390/molecules27082494>

Makarewicz, M., Drożdż, I., Tarko, T., & Duda-Chodak, A. (2021). Las interacciones entre los polifenoles y los microorganismos, especialmente el microbiota intestinal. *Antioxidantes (Basel, Switzerland)*, 10(2), 188. <https://doi.org/10.3390/antiox10020188>

Martínez, T.D. (2010). Bases moleculares del control del modo de reproducción en pulgones. Identificación de genes regulados por el fotoperíodo y caracterización de los elementos del reloj circadiano en *acyrthosiphon pisum*. *Dialnet*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=181025>.

Molle, V., Fujita, M., Jensen, S. T., Eichenberger, P., González-Pastor, J. E., Liu, J. S., & Losick, R. (2003). El regulador Spo0A de *Bacillus subtilis*. *Microbiología molecular*, 50(5), 1683–1701. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03818.x>

Ocon Araujo, C., y Callañaupa Quispe, K. (2021). Bioplaguicidas microbianos para el control biológico de plagas Agrícolas en Latinoamérica: revisión sistemática. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/75622>

Olvera Renella, C. A. (2023). *Envases vacíos de productos plaguicidas y su afectación al medio ambiente* (Bachelor's thesis, BABAHOYO: UTB, 2023). <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/14834>

Ornelas, R., Reyes, G. D., Rincón, M. V., y Carmona, A. (2020). La sustentabilidad y la ética ambiental en México como herramientas para disminuir los efectos de plaguicidas en el medio ambiente y en la salud. *Revista Inclusiones*, 477-492. <https://revistainclusiones.org/index.php/inclu/article/view/1349>.

Osonga, F. J., Akgul, A., Miller, R. M., Eshun, G. B., Yazgan, I., Akgul, A., & Sadik, O. A. (2019). Actividad antimicrobiana de una nueva clase de flavonoides fosforilados y modificados. *ACS Omega*, 4(7), 12865–12871. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00077>

Ortega, M. G., Páez, P. L., Cabrera, J. L., & Bustos, P. S. (2017). Actividad inhibitoria de Quercetina y Luteolina sobre la producción de especies reactivas del oxígeno inducidas por antibióticos en leucocitos humanos. *Dominguezia*, 33(1), 76-77. Recuperado de <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/220824>

Pascual-Villalobos M., J. (2022). Aceites esenciales de origen botánico como insecticidas y repelentes en pulgones de cultivos hortícolas y colas. Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=319452>

Pérez Trueba, Gilberto. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 22(1) Recuperado en 21 de enero de 2025, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086403002003000100007&lng=es&tlng=es .

Ramírez, A. G., Sánchez, E. R., & Ibarra, J. E. (2018). Aislados nativos de *Bacillus thuringiensis* del sureste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(3), 539-551. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i3.1213>

Sauka, D. H., y Benintende, G. B. (2008). *Bacillus thuringiensis*: generalidades: Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas Agrícolas . *Revista argentina de microbiología*, 40(2), 124-140. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412008000200013y&lng=es&tlng=en.

Sánchez, H., Isabel, M., y Travieso Bello, A. C. (2021). Medidas de adaptación al cambio climático en organizaciones cafetaleras de la zona centro de Veracruz, México. *Tropical And Subtropical Agroecosystems*, 24(23), 1-10. [2021 Articulo Adaptacion-Cambio-Climatico.pdf \(vidaycafe.org\)](https://vidaycafe.org/).

Smirnova, T. A. S., Zubasheva, M. V. Z., & Shevlyagina, N. V. S. (2013). Microscopía electrónica de las superficies de las esporas de *Bacillus*. *Microbiología*. Recuperado 1 de septiembre de 2024, de <https://acrobat.adobe.com/id/urn:aaid:sc:VA6C2:c292ae5d-a955-4772-b7e8-e1b407f07006>

Sornoza-Robles, D., Zambrano-Gavilanes, F. E., Moreira-Saltos, J. R., Zambrano-Dueñas, J. F., Armiñana-García, R., y Fimia-Duarte, R. (2020). Percepción de los agricultores sobre la eficiencia de parásitoides en el control de plagas y la sostenibilidad agroecológica del limonero, riocerro, Portoviejo, Ecuador. *Neotropical Helminthology*, 14(1), 75–84. <https://doi.org/10.24039/rnh2020141629>.

Tibaquirá-Martínez, M. A. (2014). Exploración de la proteína transmembranal OmpA en la recuperación mejorada de hidrocarburos presentes en sistemas porosos (Tesis de grado, Universidad de los Andes). <https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/8a55783f-dc87-43fc-9b64-6cbe5f5c6663/content>.

Parra-Rodríguez, V. (2023). Efecto de la quercetina, baicalina, azitromicina y sus mezclas en la formación de la biopelícula, factores de virulencia y en la expresión génica asociados al Quorum sensing (QS) de *Pseudomonas aeruginosa*. <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/168>

Rahbani, Jihane and Salameh, Dominique and Awad, Mireille kallassy and Chamy, Laure and Brandam, Cédric and Lteif, Roger (2014). Un método sencillo para la separación de esporas y cristales de *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Microbiological Methods*, 107. 147-149. ISSN 0167-7012.

Rosamel, F. P. E., y Carolina, Z. L. M. (2023). Evaluación de compuestos bioactivos de la miel asociados a la generación de especies reactivas de oxígeno y la actividad antibacteriana. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/197999>

Sanchez-Yáñez, J. M., García-Ortiz; U. G., y Hernández-Escarreno, J.J. (2016) Existencia y supervivencia de esporas de variedades de *Bacillus thuringiensis* en granos de almacén. *J. Selva Andina Res. Soc.* [online]. 2016, vol.7, n.2, pp.34-46. ISSN 2072-9294. [361346796002.pdf \(redalyc.org\)](361346796002.pdf (redalyc.org).).

Tomlinson, I. (2013). Duplicar la producción de alimentos para alimentar a los 9.000 millones: Una perspectiva crítica sobre un discurso clave de la seguridad alimentaria en el Reino Unido. *Journal of Rural Studies*, 29, 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2011.09.001>

Vázquez Sandoval, D. (2016). Evaluación del efecto antifúngico de quitosano modificado con quercetina y ácido ferúlico sobre *Aspergillus flavus*. *Repositorio institucional BUAP*, <https://hdl.handle.net/20.500.12371/14016>.

Velásquez Cardona, L. F., Rojas Torres, D. S., & Cerón Salamanca, J. (2018). Toxinas de *Bacillus thuringiensis* con actividad anticancerígena: Parasporinas. *Revista colombiana de biotecnología*, 20(2), 89–100. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.73668>

Wang, S.; Yao, J.; Zhou, B.; Yang, J.; Chaudry, M.T.; Wang, M.; Xiao, F.; Li, Y.; Yin, W. (2018). Efecto bacteriostático de la quercetina como alternativa antibiótica in vivo y su mecanismo antibacteriano in vitro. *J. Alimentos Prot*, 81, 68–78. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-214>

Zelaya-Molina, L. X., Chávez-Díaz, I. F., De los Santos-Villalobos, S., Cruz-Cárdenas, C. I., Ruiz-Ramírez, S., y Rojas-Anaya, E. (2022). Control biológico de plagas en la agricultura mexicana. *Revista Mexicana de Ciencias Agrí y colas*, 27, 69-79. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i27.3251>

X. ANEXOS.



C.U., Querétaro, junio 17, 2024
No. de oficio. CBQ24/079

M.C. Andrés Carrillo Garmendia
Dr. Luis Alberto Madrigal Pérez
Investigadores responsables

Karen Villasana Rodríguez
Estudiante responsable

Dra. Montserrat Escamilla García
Dr. Jorge Noel Gracida Rodríguez
Colaboradores

Con base en las actividades de responsabilidad para el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro en la revisión de proyectos de investigación con la participación de sujetos humanos (directamente en ensayos clínicos, investigación observacional o por empleo de muestras biológicas), así como del uso de animales de experimentación, le comunicamos que el protocolo de investigación titulado **“Influencia de la suplementación de quercetina sobre la producción de la proteína insecticida CRY en *Bacillus thuringiensis*”**, del cual Usted es responsable, fue evaluado con una resolución de **exento de dictamen ético** debido a que el proyecto no incluye estudios con animales de experimentación ni sujetos humanos.

Cabe mencionar que ningún integrante del Comité declaró conflicto de interés para la evaluación del protocolo de investigación. Sin más por el momento, quedamos a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.

Iza Fernanda Pérez Ramírez
Presidente
Comité de Bioética de la Facultad de Química
Universidad Autónoma de Querétaro

Cuadro 2: Análisis de medias de la velocidad de crecimiento

FACTOR	N	MEDIA	Desv. Est.
Control	3	0.12063	0.00854
0.1 μ M	3	0.116657	0.00386
1 μ M	3	0.12343	0.00483
10 μ M	3	0.12783	0.00438
100 μ M	3	0.0582	0.0504

Cuadro 3: Análisis de varianza de la velocidad de crecimiento.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor P
FACTOR	4	0.009997	0.002499	4.69	0.022
Error	10	0.005331	0.000533		
Total	14	0.015328			

Cuadro 4: Análisis de varianza del tiempo de duplicación.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor P
FACTOR	4	4.273	1.0683	8.87	0.003
Error	10	1.204	0.1204		
Total	14	5.477			

Cuadro 5: Análisis de medias del tiempo de duplicación.

FACTOR	N	MEDIA	Desv. Est.	IC de 95%
Control	3	5.764	0.392	(5.317, 6.210)
0.1 μ M	3	5.950	0.194	(5.504, 6.396)
1 μ M	3	5.619	0.216	(5.173, 6.066)

10 μ M	3	5.427	0.183	(4.980, 5.873)
100 μ M	3	6.953	0.575	(6.507, 7.400)
Desv, Est agrupada= 0.346990				