

Probióticos promotores de salud obtenidos de la microbiota del gusano de Maguey (*Aegiale hesperiaris*)

Ma. Fabiola León-Galván¹, María Fernanda Gonzalez-Rodríguez¹, Pedro Geovani Torres Gómez¹, Ángel Yael Ignacio-Rangel²

¹Departamento de Alimentos, ²Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato,.

Resumen

El crecimiento acelerado de la población mundial y las enfermedades crónicas no degenerativas causadas por la mala alimentación ponen en alerta ante la inminente necesidad de incrementar la innovación y producción de alimentos funcionales a través de fuentes sustentables que garanticen además la calidad e inocuidad alimentaria. Se propone a los insectos como alternativa de alimento por su valor nutricional tanto en proteína como de otros elementos que incluso se estima que son mejores que la de origen animal. En ese sentido, el objetivo de esta investigación fue identificar preliminarmente la microbiota del gusano de *Aegiale hesperiaris* con principal énfasis en los microorganismos probióticos asociados con su valor nutritivo. Interesantemente se encontró que en el intestino del gusano los microorganismos presentes al ser cultivados en medio diferentes medios de cultivo solo crecieron en medio selectivo para probióticos; y se confirmó molecularmente a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que la región 16S ribosomal efectivamente pertenece al género *Lactobacillus*. En ese sentido se abre la posibilidad de estudiar detalladamente las redes ecológicas de estos microorganismos.

Palabras clave: Maguey, gusano, probióticos, salud.

Introducción

Los insectos son considerados como una fuente de alimento con alto valor nutritivo y han sido parte importante en la dieta del ser humano desde tiempos remotos (van Huis et al., 2013). En el mundo existen poco más de 900,000 especies conocidas de insectos, de las cuales se conoce que aproximadamente 1,900 especies son comestibles (van Huis et al., 2013). La importancia del consumo de insectos no sólo recae en las características organolépticas que poseen, sino que pueden contribuir tanto a la seguridad alimentaria como a la salud por su contenido nutricional (van Huis et al., 2013) siendo una excelente fuente de proteínas, carbohidratos, ácidos grasos, fibra, vitaminas, minerales y micronutrientes (Rumpold & Schlüter, 2013), aunque el contenido nutricional depende de la especie y de la etapa de desarrollo del insecto (Jansson & Berggren, 2015). En México, existen cerca de 50 mil especies de insectos, de las cuales 549 son comestibles; siendo los escamoles, ahuatles, chapulines, hormigas chicatanas, jumiles, chinicuilos y los gusanos de maguey las principales especies que se consumen (van Huis et al., 2013). Los gusanos blancos de maguey, las larvas de la mariposa *Aegiale hesperiaris*, son unos de los insectos más conocidos y consumidos en México (Ramos-Elorduy et al., 2011). Son fuente de nutrientes, principalmente de proteínas (30-40%) (Ramos-Rostro, et al., 2012) que son secretadas por microorganismos presentes en el tracto digestivo (Scharf, 2015), principalmente bacterias probióticas, durante la degradación de compuestos polisacáridos presentes en las hojas de maguey de donde se alimentan (Martínez-Gutiérrez et al., 2017). Estas proteínas alimentarias aportan péptidos bioactivos con actividad biológica que promueve la salud (Daliri, Oh & Lee, 2017). Es este contenido de proteínas producido por la microbiota intestinal en los insectos comestibles lo que ofrece la oportunidad de identificar y obtener péptidos bioactivos con funciones auxiliares en el aumento de la calidad de la dieta humana. Sin embargo, al día de hoy, la información acerca de la microbiota con potencial para la salud humana en insectos comestibles de México es escasa, y es nula la relacionada a los gusanos blancos de maguey. En ese sentido, el objetivo de esta investigación fue identificar preliminarmente la microbiota del gusano de *Aegiale hesperiaris* con principal énfasis en los microorganismos probióticos asociados con su valor nutritivo.

Materiales y métodos

Se trabajó con larvas de gusano de maguey, las cuales fueron esterilizadas en superficie mediante lavados de etanol al 70%, 5% de solución de hipoclorito de sodio, y finalmente con buffer de fosfatos (PBS). El intestino de las larvas se obtuvo por disección del gusano de maguey, para ello se empleó un estero-microscopio para facilitar la observación del intestino. El intestino se disgregó en buffer de fosfatos; posteriormente se realizó la siembra en placa en diferentes medios de cultivo: papa dextrosa agar (PDA), Agar Man Rogosa Sharpe (MRS) que es medio selectivo para *Lactobacillus*, y en Agar Propionato (TOS) selectivo para bifidobacterias; la siembra realizó con una dilución de 1×10^{-6} . Se extrajo DNA genómico del intestino y de las colonias que crecieron empleando el método de Dellaporta et al. (1983) con algunas modificaciones. La identificación molecular de las bacterias presentes en el intestino del gusano de

magüey se realizó empleando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando los oligonucleótidos específicos para bacterias del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, para ello se utilizarán dos pares de oligonucleótidos; L159-F: 5'- GGAAACAGATGCTAATACCG -3' y L677-R: 5'- CACCGCTACACATGGAG -3' para lactobacilos y Lm26-F: 5'- GATTCTGGCTCAGGATGAACG -3' y Lm3-R: 5'- CGGGTGCTICCCACTTTCATG -3' para bifidobacterias. Con las siguientes condiciones: Desnaturalización inicial 3 minutos a 94 °C, seguido de 27 ciclos de 1 minuto a 94 °C, alineamiento 1 minuto a 58 °C, extensión 2 minutos a 72 °C, extensión final de 7 minutos a 72°C y un enfriamiento a 12°C. Los productos amplificados fueron analizados en agarosa al 1% + bromuro de etidio y visualizados en fotodocumentador con luz UV.

Resultados y Discusión

La disección de *A. hesperiaris* se realizó en condiciones asépticas, se extrajo el aparato digestivo, como puede observarse en la Figura 1, intestino se extrajo completo de cavidad bucal a esfínter. El intestino disgregado en PBS y sembrado en los diferentes medio de cultivo indicado que únicamente en el medio MRS hubo crecimiento; cabe recordar que este medio es selectivo para lactobacillus, los cuales se observa su crecimiento en la Figura 2. Como se puede observar, incluso al centro del la placa hay un pequeño trozo de intestino, las colonias se dejaron crecer intencionalmente para poder realizar la re siembra y posterior stock en glicerol para conservar la cepa; y de la misma del crecimiento original para realizar la extracción de DNA.



Figura 1. Disección del intestino de *A. Hesperiaris*.



Figura 2. Crecimiento de bacterias obtenidas de intestino de *A. Hesperiaris* en medio MRS.

Para la extracción de DNA intestino de *A. hesperiaris* se probaron varios métodos descritos por diferentes autores para obtener ácidos nucleicos de insectos, sin embargo ninguno de ellos funcionó, por esa razón se propuso probar el método establecido por Dellaporta (1983), que es un método desarrollado principalmente para tejido vegetal, pero que con algunas modificaciones función excelente en este estudio para la extracción de DNA, el cual puede observarse en la Figura 3, se ve un poco de proteína, pero el DNA obtenido es de muy buena calidad, la cuantificación indicó que fue de 325 ng/ μ L. Respecto al PCR, en la reacción se obtuvo un solo amplicón de 750 pb que corresponde al tamaño esperado, de acuerdo a lo simulado en el análisis bioinformático realizado con los oligos diseñados y empleando como molde un análisis clustal de varias secuencias de *Lactobacillus*.

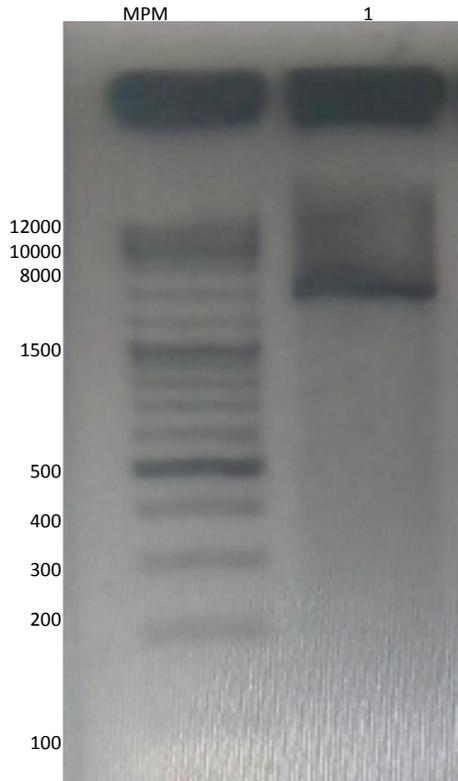


Figura 3. DNA extraído de intestino de *A. Hesperiaris*. MPM: Marcador de tamaño molecular. Carril 1. DNA genómico.

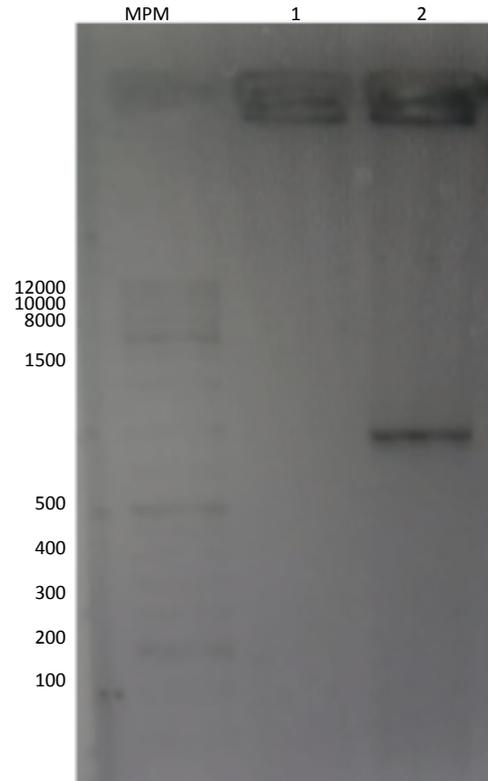


Figura 4. PCR oligo.especifico para *Lactobacillus* empleando DNA extraído de intestino de *A. Hesperiaris*. MPM: Marcador de tamaño molecular. Carril 1. Control negativo, carril 2. Muestra analizada.

Si bien, estos resultados son preliminares, confirman la presencia de microorganismos, que dado que crecieron en medio MRS y amplificaron en PCR con oligos específicos para el genero *Lactobacillus* se puede concluir que efectivamente en el intestino de maguey hay presencia de microorganismos probióticos que pueden presentar un gran potencial benéfico a la salud humana.

Bibliografía/Referencias

- Daliri, E. B.-M., Oh, D. H., & Lee, B. H. (2017). Bioactive Peptides. *Foods*, 6 (32), 1-21
- Jansson, A., & Berggren, A. (2015). *Insects as Food - Something for the Future?* Uppsala, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU): A report from Future Agriculture.
- Martínez-Gutiérrez, F., Ratering, S., Juárez-Flores, B., Godínez-Hernández, C., Geissler-Plaum, R., Prell, F., Zorn, H., Czermak, P., & Schnell, S. (2017). Potential use of *Agave salmiana* as a prebiotic that stimulates the growth of probiotic bacteria. *LWT*, 84, 151-159. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.044>
- Ramos-Elorduy, J., Moreno, J. M., Vázquez, A. I., Landero, I., Oliva-Rivera, H., & Camacho, V. H. (2011). Edible Lepidoptera in Mexico: Geographic distribution, ethnicity, economic and nutritional importance for rural people. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 7(2).
- Ramos-Rostro, B., Quintero Salazar, B., Ramos-Elorduy, J., Pino Moreno, J. M., Ángeles Campos, S. C., García Pérez, Á., et al. (2012). Análisis químico y nutricional de tres insectos comestibles de interés comercial en la zona arqueológica del municipio de San Juan Teotihuacán y en Otumba, en el Estado de México. *Interciencia*, 37 (12), 914-920. ISSN: 0378-1844. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=339/33925592008>.
- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 802-823.
- Scharf, M. E. (2015). Omic research in termites: an overview and a roadmap. *Frontiers in Genetics*, 6, 1-19.
- Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., et al. (2013). Edible insects: Future prospects for food and feed security. FAO Forestry paper (Vol. 171).