

© 2023 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 26: 1-11, 2023.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.576>

## Control de fitopatógenos con extractos de biomasa de chile y de maíz

<sup>1</sup>Luis Alfonso Jiménez-Ortega, <sup>2</sup>Octavio Valdez-Baro, <sup>1</sup>Jorge Miguel Heredia-Bátiz,  
<sup>2</sup>Raymundo S. García-Estrada y <sup>1</sup>José Basilio Heredia\*

<sup>1</sup>Laboratorio de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos, <sup>2</sup>Laboratorio de Fitopatología, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., Carretera El Dorado Km. 5.5 Campo El Diez, 80110 Culiacán Rosales, Sinaloa, México. E-mail: \*jbheredia@ciad.mx

### RESUMEN

México es uno de los principales productores de chile y de maíz a nivel mundial. Actividad de la que se originan grandes cantidades de biomasa y subproductos agrícolas, los cuales se pretende que sean valorizados para mitigar el daño al medio ambiente y generar así un valor agregado. El objetivo de este estudio fue obtener fitoquímicos con actividad antibacteriana y antifúngica de biomasa de chile y de maíz contra fitopatógenos de importancia económica para la agricultura, al emplear métodos de extracción basados en la química verde. Para la extracción de los fitoquímicos se dispuso de dos tipos de Disolventes Eutécticos Profundos (DES), y una fermentación láctica con *Lactobacillus plantarum*. Los extractos se evaluaron *in vitro* e *in vivo* contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Ralstonia solanacearum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *licopersici*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani*. Los resultados *in vitro* demostraron que los extractos obtenidos con los DES fueron efectivos contra las bacterias, a diferencia de las pruebas *in vivo* que inhibieron el crecimiento de los hongos. El potencial de los extractos de las biomásas contra los microorganismos fitopatógenos, las señala como una herramienta de biocontrol agrícola, que asegura la sustentabilidad y se aprovecha el beneficio de los DES que son eficientes, biodegradables, inocuos, y con capacidad de extracción de fitoquímicos antimicrobianos y antifúngicos.

**Palabras clave:** bioplaguicidas, ácidos fenólicos, Disolventes Eutécticos Profundos, *Lactobacillus plantarum*, fitopatógenos.

### Phytopathogens control with pepper and maize plant biomass extracts

### ABSTRACT

Mexico is one of the main producers of pepper and maize worldwide. Activity from which significant amounts of biomass and agricultural by-products originate must be valued to mitigate damage to the environment and generate added value. This study aimed to value the agricultural biomass of chili and maize, to obtain phytochemicals with antibacterial and antifungal capacity against phytopathogens of economic importance for agriculture, using extraction methodologies based on green chemistry. For the extraction of phytochemicals, two types of Deep Eutectic Solvents (DES) were used, and a lactic fermentation with *Lactobacillus plantarum*. The extracts were evaluated *in vitro* and *in vivo* against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Ralstonia solanacearum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *licopersici*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea* and *Alternaria solani*. The *in vitro* results showed that the extracts obtained with the DES were effective against bacteria, unlike the *in vivo* tests that inhibited the growth of fungi. The potential of biomass extracts against phytopathogenic microorganisms suggests its usefulness as an agricultural biocontrol tool, by ensuring sustainability with the use of DES that, in addition to being efficient, biodegradable, and innocuous, achieved the extraction of antimicrobial phytochemicals.

**Keywords:** biopesticides, phenolic acids, Deep Eutectic Solvents, *Lactobacillus plantarum*, phytopathogens.

## INTRODUCCIÓN

**E**l maíz (*Zea mays* L.) y el chile (*Capsicum annuum* L.) son cultivos de importancia económica a nivel mundial por su producción y consumo. En el año 2019, a nivel global la producción de maíz fue de 1,409,444,796 t. Los países que destacan por su producción son Estados Unidos, China y Brasil (FAO, 2021). En lo que respecta a la producción de chile, pimientos picantes y pimientos verdes se produjeron 57,034,382 t, los países con mayor producción fueron China, México y Turquía (FAO, 2021). Las cifras anteriores nos inducen a considerar la importancia de salvaguardar la producción de los cultivos agrícolas, por ser la base de la alimentación humana, sin embargo, factores como el cambio climático y la presencia de las plagas los impactan de forma negativa, estas últimas ocasionan pérdidas de más del 40 % (FAO, 2019).

El uso de los agroquímicos sintéticos y semisintéticos, cobran relevancia al controlar a la población de insectos y/o microorganismos. Sin embargo, el resultado de su aplicación desmedida son los problemas conocidos de resistencia y con el incremento de su empleo se origina un impacto negativo en lo económico, ambiental y social a través del daño a la salud (Maggi, Tang, Black, Marks & McBratney, 2021; Osaili *et al.*, 2022). Está bien documentado y debatido el uso de los agroquímicos como causantes de los efectos teratogénicos, mutagénicos, cancerígenos, hepatotóxicos, neurotóxicos y consecuencias de muerte (Karalexi *et al.*, 2021; Lucero & Muñoz-Quezada, 2021; Matich *et al.*, 2021; Moebus & Boedeker, 2021; Pereira *et al.*, 2021). En los años recientes, el uso de los productos naturales como bioplaguicidas ha resultado ser una herramienta prometedora y rentable, con la capacidad de competir y suplir a los agroquímicos convencionales.

Uno de los problemas, consecuencia, de la producción masiva de cultivos agrícolas son los grandes volúmenes de biomasa que generan (hojas, tallos y raíces). Se estima que anualmente son producidos más de 5 billones de t, que por lo general se combustionan, se arrojan a cuerpos de agua, se reintegran a la tierra o se procesan para alimentar al ganado (Torres-Valenzuela, Ballesteros-Gómez & Rubio, 2020). Sin embargo, estas prácticas son poco rentables y poco sustentables, impactan negativamente al medio ambiente y también a la salud pública (FAO, 2018; UN, 2020; Yaashikaa, Senthil & Varjani, 2022).

Las biomásas agrícolas son fuente abundante de fitoquímicos (flavonoides, ácidos fenólicos, terpenos, saponinas, alcaloides y carotenoides), que ejercen actividades antibacteriales, antifúngicas y antioxidantes, entre otras, por lo que en años recientes ha aumentado el interés en su potencial insecticida y bioplaguicida. Los bioplaguicidas sobresalen de los tradicionales por su bajo impacto ambiental, nula toxicidad, residualidad y por su eficacia para controlar a los microorganismos fitopatógenos (Gullón, Gullón, Romani, Rochetti & Lorenzo, 2020; Saha &

Basak, 2020; Torres-Valenzuela *et al.*, 2020). Los métodos de extracción elegidos son decisivos en los rendimientos, pureza, preservación, aplicación y elección de los compuestos de interés, por lo que la designación de los mismos debe de ser acorde a su aplicación final (Cespedes *et al.*, 2015; Mouden, Klinkhamer, Choi & Leiss, 2017; Suteu Rusu, Zaharia, Badeanu & Daraban, 2020).

Las estrategias de valorización de las biomásas deben de ser conforme a los principios de la química verde (Sheldon, 2016; Garadew *et al.*, 2020; Guan, Chen, Huei, Ping & Tasang, 2020). El uso de los DES en la química verde y de productos naturales se ha popularizado en los últimos años. Se caracterizan por presentar interacciones intermoleculares y supramoleculares entre sus componentes (aceptor y donador de enlaces de hidrógeno). Los DES son capaces de extraer, solubilizar, estabilizar y preservar a los fitoquímicos, sin presentar toxicidad, característica que depende de los compuestos usados para su elaboración (Kalhor & Ghandi, 2019; Socas-Rodríguez, Torres-Cornejo, Álvarez-Rivera & Mendiola, 2021). Poco se ha explorado sobre el uso de los DES como medios de extracción de moléculas insecticidas, antifúngicas y antibacterianas, para el control de los fitopatógenos. Los DES son disolventes de diseño que se adaptan a las necesidades del usuario, se conforman de una serie de moléculas de diferente naturaleza, como los ácidos orgánicos, las sales cuaternarias, los alcoholes, las amidas y/o los terpenos, entre otros, que fungen como aceptores y donadores de enlaces de hidrógeno. Su arreglo estructural y fácil preparación les brindan las ventajas de ser selectivos con los fitoquímicos de interés y económicos en comparación con las fórmulas de los plaguicidas comerciales (Mouden *et al.*, 2017; Misan *et al.*, 2020).

Por otro lado, la fermentación aumenta el rendimiento de la extracción de los fitoquímicos. *L. plantarum* por ser una bacteria probiótica generalmente reconocida como segura, es utilizada en la industria alimenticia y en la agrícola (Pontonio, Dingo, Gobbetti & Rizzello, 2019; Nwachukwu, George-Okafor, Ozoani & Ojiagu, 2019). El objetivo de la presente investigación fue extraer los fitoquímicos de la biomasa de maíz y de chile, mediante los DES y la fermentación con *L. plantarum* para evaluar su actividad antifúngica y antibacteriana *in vitro* e *in vivo* al emplear como modelo de estudio a los frutos de papaya (*Carica papaya*) y de tomate (*Solanum lycopersicum*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de biomasa y acondicionamiento

Se recolectó la biomasa senescente (hojas y tallos) de pimiento morrón (BPM), tipo blocky, variedad Thames F1, sembrado a cielo abierto, en Culiacán, Sinaloa. También se colectó la biomasa de maíz criollo (BMC) raza chapolote, sembrado a cielo abierto y la biomasa de maíz amarillo híbrido (BMH) SYN307 ambas de predios ubicados en Navolato, Sinaloa. La biomasa se deshidrató en un horno de secado por aire forzado

marca Excalibur, durante 12 h a 60 °C. Una vez seca se procesó en un pulverizador semi industrial marca Pulvex® modelo 300 y se almacenó en bolsas de polipropileno a -20 °C.

#### Extracción tradicional (extractos acuosos)

Para la extracción se pesaron 90 g de BPM, y se dejaron macerar en 950 mL de agua destilada. Se pesaron 45 g de BMC y de BMH y se dejaron en maceración en 1 L de agua destilada. Las muestras estuvieron en agitación constante a 800 rpm, durante 24 h a 30 °C. Se separó el sobrenadante del pellet mediante una filtración con papel Whatman No. 1, los sobrenadantes se liofilizaron y conservaron a -20 °C hasta su uso.

#### Síntesis de Disolventes Eutécticos Profundos (DES) y extracción de los fitoquímicos

Se sintetizaron los DES con el método descrito por Dai, van Spronsen, Witkamp, Verpoorte & Choi (2013). Se utilizó cloruro de colina (ChCl) (99 % Sigma Aldrich) como aceptor de enlaces de hidrógeno, por sus siglas en inglés (HBA) y ácido láctico (85 % Sigma Aldrich) como donador de enlaces de hidrógeno (HBD), en relación 1:4 molar (DES1). Para el DES2 se usó ChCl y 1,2-butanediol (99 % Sigma Aldrich) 1:2 molar. La síntesis consistió en calentar la mezcla de ambos compuestos a 80 °C con agitación constante, durante 1 h, al final a cada DES se le añadió 30 % de agua (p/p).

Para la obtención de los fitoquímicos se pesaron 30 mg de las biomásas (BPM, BMC, BMH) y se hicieron extracciones de ellas añadiendo 1 mL de los DES por cada 30 mg de material vegetal. La extracción fue en un baño ultrasónico durante 45 min a 45 °C. Se recuperó el sobrenadante por centrifugación y se almacenó a -20 °C hasta su uso.

#### Condiciones de la fermentación para la extracción de los fitoquímicos

Se pesaron 45 g de cada biomasa y se adicionaron a un fermentador tipo batch, con una solución de melaza de caña a 4 °Brix en agua destilada. Se esterilizó la mezcla en una autoclave a 121 °C durante 15 min. Se inocularon los fermentados con 1 mL de una concentración correspondiente a la escala número 3 de McFarland ( $9 \times 10^8$ ) de *L. plantarum* CDBB-B-1115. Se fermentó en una incubadora durante 72 h a 37 °C. Se recuperó el sobrenadante por centrifugación, se liofilizó y almacenó a -20 °C hasta su uso.

#### Cuantificación de los ácidos fenólicos por UPLC-qTOF-MS<sup>2</sup>

Los ácidos fenólicos presentes en las biomásas se cuantificaron utilizando un equipo UPLC Acquity H Waters con analizador de masas G2-XS qTof (cuadrupolo y tiempo de vuelo), con un capilar 1.5 KV y cono de muestreo 30 v, con solvatación de 800 (L/h) a una temperatura de 500 °C. La fuente de ionización fue por electrospray (ESI). Se usó una columna Acquity UPLC BEH C18 1.7 µm, 2.1 × 100 mm, a 40 °C. Las fases móviles utilizadas fueron: A) agua acidificada al 0.1 % con ácido

fórmico y B) acetonitrilo, con una elución en gradiente de 95 % de A y 5 % de B con un flujo de 0.3 mL/min y un volumen de inyección de 1 µL (Purushothaman & Pemiah, 2014).

#### Evaluación antibacteriana y antifúngica *in vitro*

Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos contra las bacterias *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas vesicatoria* y *Ralstonia solanacearum*. Las bacterias se inocularon en cajas Petri, en tres diferentes tipos de medio de cultivo: agar Mueller-Hinton, agar nutritivo y B de King, respectivamente. Se evaluó la actividad antifúngica de los extractos contra los hongos *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani*, los cuales se inocularon en agar papa dextrosa. Una vez desarrollado cada microorganismo, con una asa estéril se tomó parte del mismo y se depositó en un tubo de ensayo con agua estéril. Se usó la escala de McFarland para ajustar las concentraciones bacterianas a  $3 \times 10^9$  UFC y una cámara de Neubauer para ajustar las concentraciones de esporas de los hongos a  $1 \times 10^7$ .

El reto bacteriano y fúngico consistió en sembrar a los microorganismos en cajas Petri de 90 mm de diámetro con los medios de cultivo respectivos para cada bacteria y hongo. Para esto se depositaron en ellas 10 µL de la solución de  $3 \times 10^9$  UFC y  $1 \times 10^7$  esporas, homogeneizando con perlas de vidrio estériles. Posteriormente se aplicaron 5 µL de los extractos de biomasa en 5 puntos equidistantes de las placas. Las concentraciones evaluadas fueron de 30 mg/mL para los extractos obtenidos con los DES (DES1 y DES2), 700 mg/mL fermentados, 600 mg/mL acuosos. Una vez aplicado el extracto se incubaron durante 72 h a 22 °C. Pasado este tiempo (72 h), se midió el diámetro (mm) de inhibición y se reportó el porcentaje (PI) de inhibición con la fórmula:  $PI (\%) = R1-R2/R1100$ . Donde R1 = crecimiento del hongo y bacteria sin extracto y R2 = crecimiento del hongo y bacteria en presencia de los extractos. Se usó como control negativo agua destilada y el disolvente DES1. Las evaluaciones se realizaron por triplicado con 5 repeticiones. Los resultados se plasmaron como promedios y desviaciones estándar.

#### Determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC)

Se eligieron los extractos que presentaron actividad en la etapa anterior y los microorganismos susceptibles. Para esto, se eligieron los extractos obtenidos con el DES1 de las tres biomásas, y se evaluaron frente a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *C. gloeosporioides*, *A. solani*, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *X. vesicatoria* y *R. solanacearum*. Se estudiaron las concentraciones de 0.5, 1.0, 2.0, 25 y 30 mg/mL. El reto antimicrobiano se realizó con la metodología antes descrita. La MIC se estableció con la concentración que no presentó crecimiento microbiano después de 72 h. Los experimentos se realizaron por triplicado con 5 repeticiones. La MIC se expresó en mg de biomasa / mL de extracto.

### Evaluación antifúngica en frutos de papaya (*Carica papaya*) y de tomate (*Solanum lycopersicum*)

El experimento se basó en la metodología descrita por Pane, Fratianni, Parisi, Nazzaro & Zaccardelli (2016), con ligeras modificaciones. Se evaluaron por separado los extractos de las tres biomásas (BPM, BMH, BMC) obtenidos con el DES1. Las concentraciones estudiadas fueron 25 y 30 mg/mL. Para esto se usaron papayas Maradol y tomates tipo bola en estado de madurez comercial sin defectos mecánicos y/o por plagas. Previo al experimento se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Se determinaron los puntos de aplicación y se les hizo con una asa estéril una incisión superficial no mayor a 2 mm. Se evaluaron suspensiones de esporas de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *C. gloeosporioides* y *A. solani* a concentraciones de  $1 \times 10^7$ . Los experimentos se realizaron por triplicado con 5 repeticiones.

Los tratamientos evaluados fueron:

Aplicación correctiva: aplicación de 5  $\mu$ L de suspensión de esporas de cada hongo por separado, se dejó reposar por 2 h, y se aplicó 5  $\mu$ L de cada uno de los extractos por separado.

Aplicación preventiva: aplicación de 5  $\mu$ L de los extractos por separado, se dejaron actuar por 2 h y se inocularon 5  $\mu$ L de las suspensiones de esporas de cada hongo por separado.

Aplicación simultánea: aplicación de 5  $\mu$ L de una mezcla 1:1 v/v de la suspensión de esporas de los hongos por separado y de los extractos por separado, en concentraciones de 30 mg/mL.

Los frutos se dejaron a humedad relativa de un 80 % y a 25 °C durante 5 d. Se midió el grado de efectividad y progresión del daño cada 24 h. Las observaciones se basaron en el daño causado externa e internamente en ambos tipos de frutos. Se usó como control negativo agua estéril. Los experimentos se realizaron por triplicado con 5 repeticiones.

### Evaluación bactericida en plantas de tomate

La evaluación bactericida *in vivo* se llevó a cabo en plantas de tomate bola variedad Floradade obtenidas a partir de semillas susceptibles a las bacterias mencionadas. Las plántulas se trasplantaron a macetas con tierra estéril. Durante el experimento se fertilizaron vía foliar cada tercer día con urea al 1 % en agua.

Después de 15 d de acondicionamiento en las macetas, se llevó a cabo la inoculación con una suspensión bacteriana a una concentración de  $9 \times 10^8$  UFC de las bacterias *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *X. vesicatoria* y *R. solanacearum*. Previo a la inoculación, con una asa estéril se hicieron incisiones en las axilas de las plantas, no mayores a 2 mm para depositar en ellas 5  $\mu$ L de la suspensión bacteriana. En el caso de *X. vesicatoria*, la suspensión se asperjó en la parte área de las plantas, al igual

que el extracto y se cubrieron durante 24 h con una bolsa de polietileno de baja densidad, para aumentar la humedad relativa.

El experimento se evaluó mediante una escala de infección-daño, durante 15 y 30 d. Los tratamientos fueron semejantes a los descritos en los incisos 1 (aplicación correctiva), 2 (aplicación preventiva) y 3 (aplicación simultánea). Se usó como control plantas sanas sin extractos y sin bacterias y plantas con bacterias de cada una por separado, sin extractos. Los experimentos se efectuaron por triplicado con 5 repeticiones.

### Diseño estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado con 5 repeticiones. Las mediciones de la etapa preliminar se contrastaron con un ANOVA y prueba de Tukey al 0.5 %.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Perfil fitoquímico mediante UPLC-qTOF/MS<sup>2</sup>

Las biomásas de maíz presentaron un contenido significativo de ácidos fenólicos (Figura 1) principalmente de cumárico (236  $\mu$ g/g de biomasa peso seco). Estos resultados son superiores a los extractos de ensilado de maíz fermentado con *Trametes versicolor* (ácido ferúlico 3.8  $\mu$ g/g, ácido caféico 55.7 y ácido siríngico 29.2  $\mu$ g/g de biomasa peso seco) (Bucić-Kojić, Šelo, Zelić, Planinić & Tišma, 2017). Vázquez-Olivo, López-Martínez, Contreras-Angulo & Heredia (2019), identificaron a los ácidos fenólicos cumárico y ferúlico en la biomasa de maíz híbrido. Provan, Scobbie & Chesson (1994), extrajeron ácidos hidroxicinámicos de los tallos de maíz, esto mediante extracción asistida de microondas. Đorđević, Sarić & Gajić (2019), lograron la extracción de ácido cinámico, *p*-cumárico y ferúlico de rastrojo de maíz por fermentación; de forma similar Bucić-Kojić *et al.* (2017), extrajeron ácido siríngico, vanílico, *p*-hidroxibenzóico y ácido cafeico de ensilado de maíz por fermentación en estado sólido.

Por otro lado, en la biomasa de chile predominó el contenido de ácido clorogénico ( $37.78 \pm 2.4$   $\mu$ g/g de biomasa peso seco). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Chen & Kang (2013), donde lograron cuantificar ácido clorogénico y *p*-cumárico ( $3,820 \pm 0.13$  y  $2,980 \pm 0.06$   $\mu$ g/g respectivamente) a partir de los extractos metanólicos de los tallos de chile rojo coreano (variedad no especificada). El extracto de BPM fue el más abundante en ácido clorogénico, ácido ferúlico y ácido quínico, a diferencia de los extractos de BMC y de BMH (Tabla I). Llama a la atención que los ácidos fenólicos en su mayoría están presentes en las partes no comestibles del chile. Acero-Ortega *et al.* (2005), cuantificaron concentraciones mayores en los tallos y en las hojas que en los frutos de distintas variedades de chile. Barrajón-Catalán *et al.* (2020), encontraron en un estudio metabolómico la mayor presencia de ácidos fenólicos en las hojas que en los frutos de pimiento morrón cv. Palermo. Chen & Kang (2013), mostraron que los tallos de chile rojo de origen coreano (variedad no especificada), presentaron una

Tabla I. Perfil mediante UPLC/qTOF/MS<sup>2</sup> de los ácidos fenólicos de las biomazas

Ácido fenólico	Tipo de biomasa		
	BPM	BMC	BMH
	Concentraciones (µg/g de biomasa peso seco)		
Ácido cafeico	1.29 ± 0.03	0.55 ± 0.01	0.26 ± 0.02
Ácido clorogénico	37.78 ± 2.4	0.77 ± 0.12	1.63 ± 0.17
Ácido cumárico	3.94 ± 0.17	211.15 ± 1.5	236.8 ± 3.6
Ácido ferúlico	26.53 ± 2.1	24.81 ± 1.7	16.22 ± 2.03
Ácido quínico	14.00 ± 0.54	5.2 ± 0.07	4.76 ± 0.2

BPM (Biomasa Pimiento Morrón); BMC (Biomasa Maíz Criollo); BMH (Biomasa Maíz Híbrido). Promedios y desviaciones estándar (n=3).

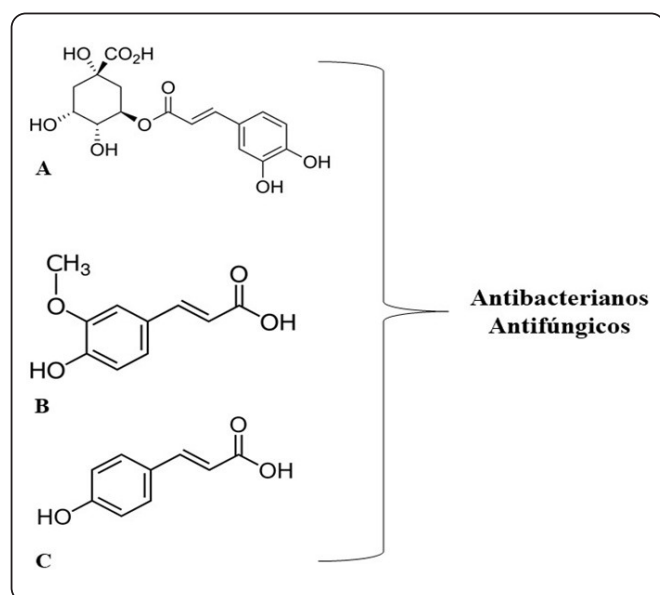


Figura 1. Estructuras moleculares de los principales ácidos fenólicos identificados en los extractos de las biomazas agrícolas de pimiento morrón (*Capsicum annuum*) y maíz (*Zea mays*). A) ácido clorogénico, b) ácido ferúlico y c) ácido cumárico.

mayor cantidad de ácido clorogénico que en el pericarpio y en la placenta.

**Actividad antifúngica y antibacterial in vitro**

Los extractos acuosos (600 mg/mL) de las tres biomazas no presentaron actividad antifúngica ni antibacterial por lo que se descartaron para la determinación de las MIC. Los extractos obtenidos, de las tres biomazas, con el DES2 (30 mg/mL) solo fueron activos contra *R. solanacearum*, al inhibir 6 mm. La comparación de medias (p<0.05%) indicó que el tipo de biomazas no difiere en cuanto a la inhibición de los microorganismos; sin embargo, el método de extracción (DES, fermentación láctica y extractos acuosos), sí fue significativamente diferente. Los

extractos con mayor bioactividad contra los microorganismos evaluados fueron los obtenidos con el DES1, seguido de fermentación y por último el DES2.

Las bacterias fueron las más susceptibles a los extractos de las tres biomazas obtenidos con el DES1 (Tabla II). Estos resultados pueden ser por el contenido de ácidos fenólicos (clorogénico, cumárico, ferúlico) y otros metabolitos que los DES extrajeron como los flavonoides, los alcaloides y los terpenos, entre otros compuestos presentes en las biomazas. También la composición del DES1 pudo influir en la actividad, por el predominio del ácido láctico, que ejerce un amplio espectro bactericida (Arena et al., 2018; Scaffaro, Maio & Nostro, 2020).

Los extractos fermentados, presentaron una menor actividad bactericida, esto porque la capacidad de extracción de los ácidos fenólicos es menor comparada con los DES, ya que estos últimos se caracterizan por su habilidad para designificar, al romper los enlaces entre los fitoquímicos y los polímeros presentes en las biomazas, facilitando su liberación (Ji, Yu, Yagoub, Chen & Zhou, 2020; Li et al., 2021; Sillero, Prado, Welton & Labidi, 2021).

Respecto a la actividad antifúngica los extractos de las tres biomazas obtenidos con el DES1 fueron los únicos que presentaron inhibición (Tabla II). Se conoce el potencial fungicida de los ácidos fenólicos principalmente del clorogénico (Martínez et al., 2017), ferúlico (Martínez-Fraca, de la Torre-Hernández, Meshoulam-Alamilla & Plasencia, 2022) y cumárico (Morales, Mendoza & Cotoras, 2017). Otras investigaciones han demostrado la diversidad de los fitoquímicos (terpenos, alcaloides, flavonoides, saponinas y esteroides) presentes en las hojas, los tallos y las raíces de los chiles (Anaya-Esparza, Mora, Vázquez-Paulino, Ascencio & Villarruel-López, 2021; Carvalho Lemos, Reimer & Wormit, 2019) y de los maíces (Rouf Shah, Prasad & Kumar, 2016; Siyuan, Tong & Liu, 2018), con actividad antifúngica y bactericida (Lengai, Muthomi & Mbega, 2020).

**Determinación de la MIC**

Las concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0 mg/mL, no inhibieron el crecimiento bacteriano y fúngico. La concentración de 25 mg/mL solo fue efectiva en las bacterias. La concentración de 30 mg/mL inhibió ambos grupos de microorganismos (Tabla III). Sólo se tomaron en cuenta los extractos obtenidos con el DES1, por el efecto observado previamente.

Poco se ha investigado sobre el potencial bioplaguicida de los extractos de los subproductos de chile y de maíz. Games *et al.* (2013), evaluaron los péptidos de la hoja de pimiento morrón contra *R. solanacearum* y *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *A. solani* y *E. carotovora* subsp. *carotovora*, logrando una disminución de un 40 % con 20 µg de la fracción ultrafiltrada de 10 kDa. Extractos etanólicos ricos en péptidos bioactivos de la raíz de *C. annuum* mostraron una inhibición del 100 y 44 % contra *C. gloesporodioides* y *C. lindemuthianum* respectivamente, esto a una concentración de 1 mg/mL (da

Silva Pereira *et al.*, 2018). Los extractos metanólicos de las hojas de *C. frutescens* inhibieron 17 mm a *C. albicans*, con una concentración de 5 mg/mL (Adepoju, Omotoso, Femi-Adepoju & Karim, 2020). Los extractos obtenidos con acetona y acetonitrilo de las hojas de *C. chinense*, inhibieron 13 mm a *Aspergillus flavus* (Gayathri, Gopalakrishnan & Sekar, 2016). Las saponinas aisladas de las semillas de *C. annuum* var. *acuminatum*, evitaron la proliferación de las levaduras (*Saccharomyces*, *Saccharomycoides*, *Schizosaccharomyces*, *Kloeckera apiculata*) y los hongos (*C. albicans*, *Penicillium expansum*, *Phoma terrestris*, *Rhizopus orizea*, *Trichoderma viride*), las MIC menores fueron de 12.5 µg/mL (Iorizzi, Lanzotti, Ranalli, De Marino & Zollo, 2002). Los extractos acuosos de las hojas de chile silvestre (*C. annuum*) presentaron una inhibición dosis-dependiente de *A. alternata*, en un 82 % con una dosis de 5 mg/mL. En los extractos de etanol con dosis de 25 mg/mL inhibieron un 53 % la germinación de los conidios (Pane *et al.*, 2016).

**Tabla II. Porcentajes de inhibición de los extractos de BPM, BMC, BMH sobre los fitopatógenos.**

		Microorganismos					
		Hongos			Bacterias		
Extractos	Concentración mg/mL	<i>Colletotrichum gloesporoides</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Alternaria solani</i>	<i>Clavibacter michiganensis</i>	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>
<b>BPM</b>							
DES1	30	7.2 ± 0.1f	7 ± 0.05f	6.5 ± 0.05g	100 ± 0a	100 ± 0a	22.3 ± 0.5b
Fermentado	700	0	0	0	0	11.8 ± 0.1d	10.3 ± 0.05d
<b>BMC</b>							
DES1	30	6.5 ± 0.05g	6.6 ± 0.1g	8 ± 0.1e	100 ± 0a	100 ± 0a	19.9 ± 0.05b
Fermentado	700	0	0	0	4 ± 0.1i	6.8 ± 0.05g	9.7 ± d
<b>BMH</b>							
DES1	30	6.5 ± 0.05g	5.8 ± 0.1g	6.9 ± 0.05f	100 ± 0a	100 ± 0a	20.4 ± 0.05b
Fermentado	700	0	0	0	0	10.2 ± 0.05d	10 ± 0.05d
<b>Control</b>	30	0	0	5.4 ± 0.2h	100 ± 0a	20.1 ± 0.1b	16.4 ± 0.2c

BPM (Biomasa Pimiento Morrón); BMC (Biomasa Maíz Criollo); BMH (Biomasa Maíz Híbrido). Se plasman los promedios y desviaciones estándar de tres réplicas (n=5). Los promedios que no comparten letra son significativamente diferentes según la prueba de Tukey <0.05 %.

**Tabla III. Concentración Mínima Inhibitoria (mg/mL) de los extractos de BPM, BMC y BMH obtenidos con el DES1.**

Extractos	Hongos			Bacterias		
	<i>Colletotrichum gloesporoides</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Alternaria solani</i>	<i>Clavibacter michiganensis</i>	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>
DES1 BPM	30	30	30	25	25	25
DES1 BMC	30	30	30	25	25	25
DES1 BMH	30	30	30	25	25	25

BPM (Biomasa Pimiento Morrón); BMC (Biomasa Maíz Criollo); BMH (Biomasa Maíz Híbrido)

Con respecto al uso de los subproductos y/o las biomásas de maíz como bioplaguicidas, se ha observado el efecto inhibitorio de los extractos de estilos y estigmas de maíz indio en *A. flavus*, *A. niger* y *A. brasiliensis* de un 100 % en los tres hongos a una concentración de 0.15 mg/mL (Abirami *et al.*, 2021). Los ácidos fenólicos y sus derivados de los extractos acuosos de las plántulas de maíz, inhibieron el crecimiento de *R. solanacearum* hasta 22 mm con una concentración de 300 µg/disco, y una MIC de 50 mg/L (Guo *et al.*, 2016). Los extractos acuosos de los tallos de maíz (Pioneer 349), redujeron el crecimiento, en un 45.6 %, de *F. moniliforme* y un 22.5 %, de *Gibberella zeae* (Whitney & Mortimore, 1959). La zeaoxazolinona que proviene de los extractos metanólicos de las raíces de maíz redujo el crecimiento de *A. flavus* (31 mm) y de *F. oxysporum* (21 mm), cantidades superiores al control con clotrimazol, con una dosis de 10 µg/disco (Mohamed *et al.*, 2014). Kalinoski *et al.* (2020), realizaron un estudio de la actividad antimicrobiana de las fracciones lignocelulósicas del rastrojo de maíz, derivadas de una hidrogenólisis de transferencia catalítica en etanol supercrítico catalizado con rutenio C. Las fracciones mostraron actividad antimicrobiana sobre *B. subtilis*, *E. coli*, *S. cerevisiae*, *S. epidermis* y *L. amylovorus* y el extracto oleoso crudo a una concentración de 4 mg/mL las eliminó un 100 %. Si bien no evaluaron microorganismos fitopatógenos, sí lo hicieron con el rastrojo de maíz como antimicrobiano.

La extracción de fitoquímicos con los DES es una herramienta novedosa para el desarrollo de bioplaguicidas, sin embargo, poco se ha explorado. Utami *et al.* (2020), optimizaron la obtención de papaína con un DES conformado por ChCl/ácido oxálico 3:2 molar. La papaína presentó propiedades insecticidas contra *Spodoptera*. Guo *et al.* (2021), extrajeron mediante un DES elaborado con ChCl/ácido oxálico 1:1 molar, aceites esenciales de los frutos de *Litsea cubeba*, que presentaron inhibición contra *F. verticillioides* (17.33 mm), *B. cinerea* (13.50 mm), *F. fijiuroi* (14.97 mm), *Sclerotinia sclerotiorum* (10.50 mm) y *F. oxysporum* (13.77 mm). Rodríguez-Juan *et al.* (2021), evaluaron el efecto antimicrobiano de los DES con diferentes tipos de donadores de enlaces de hidrógeno (sales cuaternarias, azúcares, dioles y ácidos orgánicos). Los DES con azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa) fueron los menos bioactivos contra las levaduras y las bacterias (*X. campestris*, *E. amylovora*, *E. toletana*, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *C. michiganensis* subsp. *insidiosus*, *R. radibacter*, *P. syringae* y *P. savastanoi*). Los DES elaborados con ChCl, betaína y dioles tuvieron un efecto superior al control (DMSO). La actividad antimicrobiana de los DES depende de la bacteria (Gram negativa o positiva) y de los sustratos que necesite. La composición de los DES puede aumentar la actividad antimicrobiana; los ácidos orgánicos, ChCl, betaína y dioles son ligeramente más bioactivos que los azúcares empleados como HBD (Rodríguez-Juan *et al.*, 2021).

### Actividad antifúngica en los frutos de tomate y de papaya

El tratamiento 3 (mezcla de suspensión bacteriana y extracto) mostró un decrecimiento de la enfermedad y desarrollo de los hongos (Figura 2). Se observó un daño físico a causa del DES, debido a la presencia de ácido láctico, por lo que se recomienda diluir la concentración y/o cambiar el HBD. En los tratamientos 1 y 2 se observó el desarrollo de la enfermedad y del crecimiento de los hongos. La efectividad *in vivo* de los extractos sugiere la aplicación en las etapas tempranas de la infección (síntomas), para mitigar el daño. Sin embargo, es necesario continuar el estudio de los mecanismos de acción de los DES cargados de fitoquímicos con otros modelos y concentraciones.

### Actividad bactericida en las plantas de tomate

El tratamiento 3 (mezcla de la suspensión bacteriana con el extracto) disminuyó la enfermedad, tanto en *C. michiganensis* como en *R. solanacearum* (Figura 3). Cabe mencionar que, en los puntos de aplicación axilar, el extracto secó por completo la zona, y en la parte foliar, para el control de *X. vesicatoria*, se marchitó de inmediato y también secó por completo la planta, esto debido a la acidez del extracto <1 pH. Por lo que se recomienda diluir y evaluar concentraciones menores a 30 mg/mL o emplear otro donador de enlaces de hidrógeno en la elaboración del DES, como dioles. Una de las ventajas de trabajar con los DES es su biodegradabilidad e inocuidad, por lo que se pueden emplear los extractos crudos en las plantas y/o en los frutos como recubrimientos (Thakur, Gupta, Ghosh & Das, 2022), para evitar operaciones unitarias futuras (concentración, aislamiento, purificación) en comparación con los extractos obtenidos con disolventes orgánicos. Los DES también solubilizan a las moléculas hidrofílicas y a las hidrofóbicas a la vez, lo que aumenta su aplicación y por ser disolventes de diseño, los convierte en una herramienta útil para el desarrollo de bioplaguicidas (Mouden *et al.*, 2017).

### CONCLUSIONES

Los extractos obtenidos con los DES presentaron una mayor efectividad para el control de las bacterias y los hongos fitopatógenos, en contraste con los de uso convencional (acuoso). La extracción de fitoquímicos con los DES de biomásas agrícolas, es una opción viable para la generación de bioplaguicidas.

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (CONAHCYT) por el apoyo brindado al proyecto “Aprovechamiento de la soca de maíz y chile como potenciales fungicidas de fitopatógenos de importancia económica en México” (registro 315998). Bajo el margen de la convocatoria “Desarrollo de innovaciones tecnológicas para una agricultura mexicana libre de agroinsumos tóxicos”.



Figura 2. A) Actividad antifúngica de los extractos de biomasa de pimiento morrón (*C. annuum*) y maíz (*Z. mays*) obtenidos con los DES sobre frutos de tomate inoculados con *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporoides* y *Alternaria solani*. B) Testigos sin tratamiento



Figura 3. A) Actividad antifúngica de los extractos de biomasa de maíz y de chile obtenidos con DES sobre frutos de papaya inoculados con *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporoides* y *Alternaria solani*. B) Testigos sin tratamiento.



## REFERENCIAS

- Abirami, S., Priyalakshmi, M., Soundariya, A., Samrot, A. V., Saigeetha, S., Emilin, R. R., Dhiva, S. & Inbathamizh, L. (2021). Antimicrobial activity, antiproliferative activity, amylase inhibitory activity and phytochemical analysis of ethanol extract of corn (*Zea mays* L.) silk. *Green and Sustainable Chemistry*, **4**, 100089. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100089>
- Acero-Ortega, C., Dorantes-Alvarez, L., Hernández-Sánchez, H., Gutiérrez-López, G., Aparicio, G. & Jaramillo-Flores, M. E. (2005). Evaluation of Phenylpropanoids in Ten *Capsicum annuum* L. Varieties and Their Inhibitory Effects on *Listeria monocytogenes* Murray, Webb and Swann Scott A. *Food Science and Technology International*, **11**, 5-10. <https://doi.org/10.1177/1082013205050902>
- Adepoju, A. O., Omotoso, I. O., Femi-Adepoju, A. G. & Karim, A. B. (2020). Comparative studies on the antimicrobial, chemical and biochemical contents of the foliar extracts of *Capsicum frutescens* L. varieties. *African Journal of Biotechnology*, **19**(12), 836-845. <https://doi.org/10.5897/AJB2020.17258>
- Anaya-Esparza, L. M., Mora, Z. V., Vázquez-Paulino, O., Ascencio, F. & Villarruel-López, A. (2021). Bell Peppers (*Capsicum annum* L.) Losses and Wastes: Source for Food and Pharmaceutical Applications. *Molecules*, **26**, 5341. <https://doi.org/10.3390/molecules26175341>
- Arena, M. P., Capozzi, V., Russo, P., Drider, D., Spano, G. & Fiocco, D. (2018). Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **102**, 9949-9958. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9403-9>
- Barrajón-Catalán, E., Álvarez-Martínez, F. J., Borrás, F., Pérez, D., Herrero, N., Ruiz, J. J. & Micol, V. (2020). Metabolomic analysis of the effects of a commercial complex biostimulant on pepper crops. *Food Chemistry*, **310**, 125818. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125818>
- Bucić-Kojić, A., Šelo, G., Zelić, B., Planinić, M. & Tišma, M. (2017). Recovery of Phenolic Acid and Enzyme Production from Corn Silage Biologically Treated by *Trametes versicolor*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **181**, 948-960. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2261-y>
- Carvalho Lemos, V., Reimer, J. J. & Wormit, A. (2019). Color for Life: Biosynthesis and Distribution of Phenolic Compounds in Pepper (*Capsicum annum*). *Agriculture*, **9**, 81. <https://doi.org/10.3390/agriculture9040081>
- Céspedes, C. L., Alarcon, J., Aqueveque, P. M., Lobo, T., Becerra, J., Balbontin, C., Avila, J. G., Kubo, I. & Seigler, D. S. (2015). New environmentally-friendly antimicrobials and biocides from Andean and Mexican biodiversity. *Environmental Research*, **142**, 549-562. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.08.004>
- Chen, L. & Kang, Y. H. (2013). Anti-inflammatory and antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annum* L.) stalk extracts: Comparison of pericarp and placenta extracts. *Journal of Functional Foods*, **5**, 1724-1731. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.07.018>
- da Silva Pereira, L., do Nascimento, V. V., de Fátima, F. R. S., Rodrigues, R., Fernandes, K. V. S., de Oliveira, C. A., Vasconcelos, I. M., dos Santos, B. C., Sudré, C. P., Zottich, U. & Gomes, V. M. (2018). Characterization of *Capsicum annum* L. leaf and root antimicrobial peptides: antimicrobial activity against phytopathogenic microorganisms. *Acta Physiologiae Plantarum*, **40**, 107. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2685-9>
- Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G. J., Verpoorte, R. & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, **766**, 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019>
- Đorđević, T., Sarić, M. & Gajić, U. J. (2019). Phenolic Compounds and Allelopathic Potential of Fermented and Unfermented Wheat and Corn Straw Extracts. *Chemistry and Biodiversity*, **16**, e1800420. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800420>
- FAO, (2018). Los contaminantes agrícolas: una grave amenaza para el agua del planeta. Recuperado de <https://www.fao.org/news/story/es/item/1141818/icode/#:~:text=La%20agricultura%20moderna%20es%20responsable,de%20millones%20de%20d%C3%B3lares%20EEUU>.
- FAO, (2019). La FAO presenta 2020 como Año Internacional de la Sanidad Vegetal. Recuperado de <https://www.fao.org/documents/card/es/c/CA5188ES/>
- FAO, (2021). FAOSTAT. Recuperado de <https://www.fao.org/faostat/es/>
- Games, P. D., Koscky-Paier, C. R., Almeida-Souza, H. O., Barbosa, M. O., Antunes, P. W. P., Carrijo, L. C., Pereira, P. R. G. & Baracat-Pereira, M. C. (2013). *In vitro* antibacterial and anti-fungal activities of hydrophilic plant defence compounds obtained from the leaves of bell pepper (*Capsicum annum* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **88**, 551-558. <https://doi.org/10.1080/14620316.2013.11513005>
- Garadew, M., Lin, F., Song, B., DeWinter, T. M., Jackson, J. E., Saffron, C. M., Ho, L. C. & Anastas, P. T. (2020). Greener Routes to Biomass Waste Valorization: Lignin Transformation Through Electrocatalysis for Renewable Chemicals and Fuels Production. *ChemSusChem*, **13**, 4214-4237. <https://doi.org/10.1002/cssc.202000987>
- Gayathri, N., Gopalakrishnan, M. & Sekar, T. (2016). Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Capsicum chinense* Jacq. *International Journal of Advances in Pharmaceutics*, **5**(1), 2320-4923. <https://doi.org/10.7439/ijap>
- Guan, Y. C., Chen, S. S., Huei, L. T., Ping, Y. C. & Tasang, C. W. (2020). Valorization of biomass from plant microbial fuel cells into levulinic acid by using liquid/solid acids and green solvents. *Journal of Cleaner Production*, **260**, 121097. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121097>
- Gullón, P., Gullón, B., Romani, A., Rocchetti, G. & Lorenzo, J. M.

- (2020). Smart advanced solvents for bioactive compounds recovery from agri-food by-products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, **101**, 182-197. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.007>
- Guo, B., Zhang, Y., Li, S., Lai, T., Yang, L., Chen, J. & Ding, W. (2016). Extract from Maize (*Zea mays* L.): Antibacterial Activity of DIMBOA and Its Derivatives against *Ralstonia solanacearum*. *Molecules*, **21**, 1397. <https://doi.org/10.3390/molecules21101397>
- Guo, Y., Li, Y., Li, Z., Jiang, L., Cao, X., Gao, W., Wang, J., Luo, D. & Chen, F. (2021). Deep eutectic solvent-homogenate based microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. fruits and its chemical composition and biological activity. *Journal of Chromatography A*, **1646**, 462089. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462089>
- Iorizzi, M., Lanzotti, V., Ranalli, G., De Marino, S. & Zollo, F. (2002). Antimicrobial Furostanol Saponins from the Seeds of *Capsicum annuum* L. Var. acuminatum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 4310-4316. <https://doi.org/10.1021/jf0116911>
- Ji, Q., Yu, X., Yagoub, A., Chen, L. & Zhou, C. (2020). Efficient removal of lignin from vegetable wastes by ultrasonic and microwave-assisted treatment with ternary deep eutectic solvent. *Industrial Crops and Products*, **149**, 112357. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112357>
- Kalhor, P. & Ghandi, K. (2019). Deep Eutectic Solvents for Pretreatment, Extraction, and Catalysis of Biomass and Food Waste. *Molecules*, **24**, 4012. <https://doi.org/10.3390/molecules24224012>
- Kalinoski, R. M., Li, W., Mobley, J. K., Asare, S. O., Dorrani, M., Lynn, B. C., Chen, X. & Shi, J. (2020). Antimicrobial Properties of Corn Stover Lignin Fractions Derived from Catalytic Transfer Hydrogenolysis in Supercritical Ethanol with a Ru/C Catalyst. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **8**, 18455-18467. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c05812>
- Karalexli, M. A., Tagkas, C. F., Markozannes, G., Tseretopoulou, X., Hernández, A. F., Schüz, J., Halldorsson, T. I., Psaltopoulou, T., Petridou, E. T., Tzoulaki, I. & Ntzani, E. E. (2021). Exposure to pesticides and childhood leukemia risk: A systematic review and meta-analysis. *Environmental Pollution*, **285**, 117376. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117376>
- Lengai, G. M. W., Muthomi, J. W. & Mbega, E. R. (2020). Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Scientific African*, **7**, e00239. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00239>
- Li, C., Huang, C., Zhao, Y., Zheng, C., Su, H., Zhang, L., Luo, W., Zhao, H., Wang, S. & Huang, L. J. (2021). Effect of Choline-Based Deep Eutectic Solvent Pretreatment on the Structure of Cellulose and Lignin in Bagasse. *Processes*, **9**, 384. <https://doi.org/10.3390/pr9020384>
- Lucero, B. & Muñoz-Quezada, M. T. (2021). Neurobehavioral, Neuromotor, and Neurocognitive Effects in Agricultural Workers and Their Children Exposed to Pyrethroid Pesticides: A Review [Systematic Review]. *Frontiers in Human Neuroscience*, **15**, 648171. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.648171>
- Nwachukwu, U., George-Okafor, U., Ozoani, U. & Ojiagu, N. (2019). Assessment of probiotic potentials of *Lactobacillus plantarum* CS and *Micrococcus luteus* CS from fermented milled corn-soybean waste-meal. (2019). *Scientific African*, **6**, e00183. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00183>
- Maggi, F., Tang, F. H. M., Black, A. J., Marks, G. B. & McBratney, A. (2021). The pesticide health risk index - An application to the world's countries. *Science of The Total Environment*, **801**, 149731. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149731>
- Martínez-Fraca, J., de la Torre-Hernández, M. E., Meshoulam-Alamilla, M. & Plasencia, J. (2022). In Search of Resistance Against *Fusarium* Ear Rot: Ferulic Acid Contents in Maize Pericarp Are Associated With Antifungal Activity and Inhibition of Fumonisin Production [Original Research]. *Frontiers in Plant Science*, **13**, 852257. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.852257>
- Martínez, G., Regente, M., Jacobi, S., Del Rio, M., Pinedo, M. & de la Canal, L. (2017). Chlorogenic acid is a fungicide active against phytopathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **140**, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.05.012>
- Matich, E. K., Laryea, J. A., Seely, K. A., Stahr, S., Su, L. J. & Hsu, P. C. (2021). Association between pesticide exposure and colorectal cancer risk and incidence: A systematic review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **219**, 112327. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112327>
- Misan, A., Nadpal, J., Stupar, A., Pojic, M., Mandic, A., Verpoorte, R. & Hae, C. Y. (2020). The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector. *Critical Reviews in Food Science And Nutrition*, **60**, 2564-2592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1650717>
- Moebus, S. & Boedeker, W. (2021). Case Fatality as an Indicator for the Human Toxicity of Pesticides—A Systematic Scoping Review on the Availability and Variability of Severity Indicators of Pesticide Poisoning. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **18**, 8307. <https://doi.org/10.3390/ijerph18168307>
- Mohamed, G. A., Ibrahim, S. R. M., Abdelkader, M. S. A., Al-Musayeib, N. M., Ghoneim, M. & Ross, S. A. (2014). Zeaxoxalinone, a new antifungal agent from roots. *Medicinal Chemistry Research*, **23**, 4627-4630. <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1026-9>
- Morales, J., Mendoza, L. & Cotoras, M. (2017). Alteration of oxidative phosphorylation as a possible mechanism of the antifungal action of p-coumaric acid against *Botrytis cinerea*. *Applied Microbiology International*, **123**, 969-976. <https://doi.org/10.1111/jam.13540>

- Mouden, S., Klinkhamer, P. G. L., Choi, Y. H. & Leiss, K. A. (2017). Towards eco-friendly crop protection: natural deep eutectic solvents and defensive secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews*, **16**, 935-951. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9502-8>
- Osaili, T. M., Al Sallagi, M. S., Dhanasekaran, D. K., Bani Odeh, W. A. M., Al Ali, H. J., Al Ali, A. A. S. A., Radwan, H., Obaid, R. S. & Holley, R. (2022). Pesticide residues in fresh vegetables imported into the United Arab Emirates. *Food Control*, **133**, 108663. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108663>
- Pane, C., Fratianni, F., Parisi, M., Nazzaro, F. & Zaccardelli, M. (2016). Control of *Alternaria* post-harvest infections on cherry tomato fruits by wild pepper phenolic-rich extracts. *Crop Protection*, **84**, 81-87. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.02.015>
- Pereira, P. C. G., Parente, C. E. T., Carvalho, G. O., Torres, J. P. M., Meire, R. O., Dorneles, P. R. & Malm, O. (2021). A review on pesticides in flower production: A push to reduce human exposure and environmental contamination. *Environmental Pollution*, **289**, 117817. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117817>
- Pontonio, E., Dingeo, C., Gobetti, M. & Rizzello, C. G. (2019). Maize Milling By-Products: From Food Wastes to Functional Ingredients Through Lactic Acid Bacteria Fermentation. *Frontiers in Microbiology*, **10**, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00561>
- Provan, G. J., Scobbie, L. & Chesson, A. (1994). Determination of phenolic acids in plant cell walls by microwave digestion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **64**, 63-65. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740640110>
- Purushothaman, A. & Pemiah, B. (2014). Ultra high performance liquid chromatography-ultraviolet-electrospray ionization-microTOF-Q II analysis of flavonoid fractions from *Jatropha tanjorensis*. *Pharmacognosy Magazine*, **10**, 472-479. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.139776>
- Rodríguez-Juan, E., López, S., Abia, R. J. G., Muriana, F., Fernández-Bolaños, J. & García-Borrego, A. (2021). Antimicrobial activity on phytopathogenic bacteria and yeast, cytotoxicity and solubilizing capacity of deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, **337**, 116343. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116343>
- Rouf Shah, T., Prasad, K. & Kumar, P. (2016). Maize—A potential source of human nutrition and health: A review. *Cogent Food and Agriculture*, **2**, 1166995. <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1166995>
- Saha, A. & Basak, B. B. (2020). Scope of value addition and utilization of residual biomass from medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops and Products*, **145**, 111979. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111979>
- Scaffaro, R., Maio, A. & Nostro, A. (2020). Poly(lactic acid)/carvacrol-based materials: preparation, physicochemical properties, and antimicrobial activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **104**, 1823-1835. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10337-9>
- Sheldon, R.A. Green chemistry, catalysis and valorization of waste biomass. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **422**, 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2016.01.013>
- Sillero, L., Prado, R., Welton, T. & Labidi, J. (2021). Extraction of flavonoid compounds from bark using sustainable deep eutectic solvents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, **24**, 100544. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100544>
- Siyuan, S., Tong, L. & Liu, R. (2018). Corn phytochemicals and their health benefits. *Food Science and Human Wellness*, **7**, 185-195. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.09.003>
- Socas-Rodríguez, B., Torres-Cornejo, M. V., Álvarez-Rivera, G. & Mendiola, J. A. (2021). Deep Eutectic Solvents for the Extraction of Bioactive Compounds from Natural Sources and Agricultural By-Products. *Applied Sciences*, **11**, 4897. <https://doi.org/10.3390/app11114897>
- Suteu, D., Rusu, L., Zaharia, C., Badeanu, M. & Daraban, G. M. (2020). Challenge of Utilization Vegetal Extracts as Natural Plant Protection Products. *Applied Sciences*, **10**, 8913. <https://doi.org/10.3390/app10248913>
- Thakur, R., Gupta, V., Ghosh, T. & Das, A. B. (2022). Effect of anthocyanin-natural deep eutectic solvent (lactic acid/fructose) on mechanical, thermal, barrier, and pH sensitive properties of polyvinyl alcohol based edible films. *Food Packaging and Shelf Life*, **33**, 100914. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100914>
- Torres-Valenzuela, L. S., Ballesteros-Gómez, A. & Rubio, S. (2020). Green Solvents for the Extraction of High Added-Value Compounds from Agri-food Waste. *Food Engineering Reviews*, **12**, 83-100. <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09206-y>
- UN, (2020). El impacto de las quemadas agrícolas: un problema de calidad del aire. Recuperado de <https://www.unep.org/es/noticias-y-reportajes/reportajes/el-impacto-de-las-quemadas-agricolas-un-problema-de-calidad-del-aire>
- Utami, T. S., Tibrizi, A., Sungkar, M., Tenggoro, G., Arbianti, R. & Hermansyah, H. (2020). Effect of papaya gum ratio per solvent volume and sonication time in bio-insecticide production using NaDES solvents with ultrasonic waves. *AIP Conference Proceedings*, **2255**, 040019. <https://doi.org/10.1063/5.0013696>
- Vazquez-Olivo, G., López-Martínez, L. X., Contreras-Angulo, L. & Heredia, J. B. (2019). Antioxidant Capacity of Lignin and Phenolic Compounds from Corn Stover. *Waste and Biomass Valorization*, **10**, 95-102. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0028-5>
- Whitney, N. J. & Mortimore, C. G. (1959). An Antifungal Substance in the Corn Plant and its Effect on Growth of Two Stalk-rotting Fungi. *Nature*, **183**, 341-341. <https://doi.org/10.1038/183341a0>
- Yaashikaa, P. R., Senthil, K. P. & Varjani, S. (2022). Valorization of agro-industrial wastes for biorefinery process and circular bioeconomy: A critical review. *Bioresource Technology*, **343**, 126126. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126126>