

Evaluación del crecimiento de *Phaseolus vulgaris* y microorganismos asociados

Jaramillo-Zárate María José ¹, Bueno-López Liliana ²

RESUMEN

El objetivo fue evaluar la morfogénesis de *Phaseolus vulgaris* y analizar algunos de los factores fisiológicos y fisiopatológicos que afectan este proceso en diferentes etapas (grupal e individual). Se realizó la siembra de las semillas en tierra y se evaluó cuantitativamente el largo del tallo y el número de hojas; y cualitativamente las fases de su crecimiento y anomalías relacionadas con enfermedades durante 7 y 9 semanas. Se hizo el análisis estadístico paramétrico y no paramétrico de las variables cuantificadas. Para la aproximación de caracterización de microorganismos se realizaron aislamientos de muestras en medios nutritivos y se realizan posteriores tinciones para identificación de estructuras microbianas y relación a nivel morfológico. En la etapa 1 se obtuvo que las plantas llegaron a la fase vegetativa y que las variables fueron limitadas por las condiciones de espacio en las que fueron sembradas, junto con la aparición de oídio que avanzó por las condiciones ambientales del mismo montaje. En la etapa 2 se determinó que hay una respuesta positiva del montaje en la adición de materia orgánica como potenciador de las propiedades de sustrato, y que los microorganismos fitobenéficos relacionados son de tipo *Bacillus*, mientras que en los fitopatológicos se determinan *Aspergillus* y otros. Se pudo concluir que con el manejo adecuado de los factores analizados se da una morfogénesis adecuada y exitosa del frijol, y que factores como el espacio del sustrato o fitopatógenos comunes de este tipo de plantas pueden ralentizar y afectar críticamente el crecimiento y desarrollo de estas.

Palabras claves

Frijol, fases fenológicas, fisiología vegetal, *Bacillus*, *Aspergillus*.

1 Estudiante del programa de microbiología. Universidad Libre Pereira. Grupo de investigación MICROBIOTEC

2 Docente investigadora del programa de microbiología. Universidad Libre seccional Pereira. Grupo de investigación MICROBIOTEC

Evaluation of the growth of *Phaseolus vulgaris* and associated microorganisms

ABSTRACT

The objective was to evaluate the morphogenesis of *Phaseolus vulgaris* and to analyze some of the physiological and pathophysiological factors affecting this process at distinct stages (group and individual). Seeds were sown in soil and evaluated quantitatively for stem length and number of leaves; and qualitatively for growth stages and anomalies related to diseases during 7 and 9 weeks. Parametric and non-parametric statistical analysis of the quantified variables was performed. For the microorganism characterization approach, sample isolations were made in nutrient media and subsequent staining was performed to identify microbial structures and morphological relationships. In stage 1 it was obtained that the plants reached the vegetative stage and that the variables were limited by the space conditions in which they were planted, together with the appearance of powdery mildew that advanced due to the environmental conditions of the same assembly. In stage 2 it was determined that there is a positive response of the assembly in the addition of organic matter as an enhancer of the substrate properties, and that the related plant beneficial microorganisms are of the *Bacillus* type, while in the phytopathological ones *Aspergillus* and others are determined. It was concluded that with the proper management of the factors analyzed there is an adequate and successful morphogenesis of the bean, and that factors such as substrate space or common phytopathogens of this type of plants can slow down and critically affect the growth and development of them.

Keywords: Bean, Phenological phases, Plant physiology, *Bacillus*, *Aspergillus*.

INTRODUCCIÓN

En el marco de la microbiología, la comprensión de la fisiología vegetal es clave en la búsqueda de estrategias ambientalmente amigables que potencialicen el desarrollo biotecnológico. Así, campos como la fisiología vegetal involucran la comprensión biológica, fisicoquímica y celular de las plantas en relación con enfermedades y procesos de promoción de morfogénesis relacionados con microorganismos para encontrar soluciones óptimas, eficaces y amigables con el ambiente (1). Este trabajo fue producto del curso de fisiopatología vegetal, donde se planteó el modelo aula invertida (dado por las contingencias de la crisis sanitaria por el COVID-19) para apropiar, evidenciar y justificar procesos de morfogénesis comunes de las plantas y extrapolarlo a sus enfermedades desde un enfoque especial microbiológico.

Phaseolus vulgaris, comúnmente denominado como frijol, es una legumbre de alto consumo humano, cuyo consumo per cápita en Colombia es de 3-4 kilos (2). Su fisiología tiene dos momentos bien diferenciados en su morfogénesis: una fase vegetativa, donde la semilla germina y empieza a organizarse la planta en función de la reproducción y una fase reproductiva, donde ya se ha alcanzado la madurez del grano para ser recolectado en la cosecha; en esta etapa siguen existiendo estructuras vegetativas. Cada fase tiene etapas que se caracterizan y diferencian

por la aparición o diferenciación drástica de estructuras y acomodación de la planta conforme avanza su desarrollo (3). Dentro de las fitopatologías comunes del frijol en Colombia se encuentran oídio, bacteriosis, pudrición de la raíz por *Fusarium*, entre otros (4). Entre los factores determinantes del ensayo se encuentran los sustratos, considerándose el suelo como el principal actor determinante del proceso a estudiar, por lo que la caracterización del pH y propiedades fisicoquímicas del mismo se dan a conocer por su procedencia y respectivo análisis. Otro sustrato crucial en el crecimiento de las plantas es el abono, de tipo humus de lombriz. Este sustrato brinda al tratamiento que se esté aplicando una cantidad significativa de materia orgánica, que promueve el crecimiento y brinda un mayor rendimiento de los cultivos a los que es aplicado; este tipo de materiales suelen tener un pH neutro (5) y es un potenciador de las propiedades del suelo a través de concentraciones altas de nitrógeno, fósforo y potasio (6). De igual manera los microorganismos asociados a la rizosfera benéficos para el desarrollo de planta se consideran de interés a la hora de buscar la comprensión del desarrollo de las diferentes especies vegetales (6). Los microorganismos fitobenéficos son aquellos que tienen un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas, como agentes de control biológico o de promoción de crecimiento vegetal (7), mientras que los microorganismos fitopatógenos son aquellos agentes etiológicos de

enfermedades en plantas con gran importancia por ser un limitante crítico de la producción y mercado en cultivos y materia agrícola (8).

Así, se establece como objetivo evaluar morfogénesis del frijol (*Phaseolus vulgaris*) y analizar de forma efecto de algunos factores fisiológicos y fisiopatológicos (sustrato, espacio de montaje, enfermedades y propiedades benéficas de tipo fisicoquímico y/o biológicos) relacionados con su desarrollo.

Descripción metodológica: los montajes que se describen a continuación fueron establecidos en Pereira-Risaralda, en el sector de la avenida 30 de agosto, durante el segundo semestre del año 2021, de manera casera durante actividades virtuales del semestre académico.

Etapas 1: montaje grupal

Se usó frijol (*Phaseolus vulgaris*) tipo cargamanto, los cuales se establecieron en un sustrato conformado solo por suelo cuyo pH era 5,0; una vez germinadas las semillas se llevó a cabo seguimiento durante siete (7) semanas sin modificación en el sustrato o el espacio de montaje. Adicionalmente, el suelo utilizado contenía 9% de materia orgánica, 0,1 meq/100 g suelos de potasio y calcio 4 meq/100 de suelo, resaltando solo 1 parte por millón de P (9). Las plantas se ubicaron en sombra, recibiendo luz indirecta constante y con

temperatura media en su periodo de crecimiento de 21°C aproximadamente (10). Se determinó hacer riego cada dos días, con aproximadamente 25 ml de agua de acuerdo con la apariencia del sustrato. Finalmente, se hizo la toma y organización de los datos en el programa Excel (versión 2021), siendo consideradas como variable de respuesta fisiológica, largo del tallo en centímetros y número de hojas, color de la planta, presencia de enfermedades o plagas u otras anomalías. Se realizó el análisis estadístico de los datos obtenidos en el programa InfoStat (versión 2021), donde se aplicaron pruebas paramétricas (prueba de normalidad Shapiro-Wilks) y no paramétricas (Kruskal-Wallis) según lo requirieran las variables analizadas.

Etapas 2: montaje individual

Se usó frijol (*Phaseolus vulgaris*) tipo cargamanto. Se aseguró la germinación de una única semilla en un montaje especial para su imbibición y posteriormente se trasplantó al sustrato tierra para iniciar con la evaluación del crecimiento. El montaje tuvo un seguimiento total de nueve (9) semanas: seis (6) semanas en tratamiento tierra sin modificación del espacio de crecimiento y tres (3) semanas en tratamiento tierra abonada con modificación en este último tratamiento en el aumento del espacio de crecimiento. La tierra usada fue de tipo comercial cuyo pH fue de 5.17. El tratamiento de tierra abonada fue una mezcla de la tierra usada en primer lugar con hummus de lombriz comercial

en una proporción 1:1, cuyo pH fue de 5.28. La planta se ubicó en sombra, recibiendo luz indirecta constante y con temperatura media en su periodo de crecimiento de 21°C aproximadamente (10). Se llevó a cabo riego cada dos días y se adicionaron 15 ml de agua de acuerdo con la apariencia del sustrato, con el fin de mantenerla húmeda. Finalmente, se hizo llevó a cabo el mismo manejo de datos reseñado en la etapa 1.

Aislamiento de microorganismos fitobenéficos y fitopatógenos

Para la determinación de microorganismos fitobenéficos y fitopatógenos se desinfectaron las muestras (hojas, tallo, raíz) con hipoclorito de sodio al 1%, etanol al 70% y con un último lavado con agua destilada. Se sembraron directamente pequeñas secciones de las muestras en medios sólidos agar papa dextrosa (PDA) y agar recuento en placa (PCA), donde fueron incubados en condiciones de temperatura ambiente y oscuridad durante 5 días para el desarrollo el crecimiento de posibles hongos endófitos a condiciones de temperatura de 37°C y durante un rango de 5 días aproximadamente (11). De acuerdo con la visualización macroscópica de las colonias y los micelios, se realizó

tinción con azul de lactofenol (para posibles hongos) y tinción Gram (para posibles bacterias). Se hizo visualización microscópica en microscopio óptico Nikon Eclipse E200 y se comparó la identificación de las estructuras morfológicas con la literatura.

Resultados y análisis

Las etapas planteadas están diferenciadas por la cantidad de semillas germinadas y viables para cada uno de los montajes (siendo ocho semillas en la etapa 1 -montaje grupal- y una única semilla en la etapa 2 -montaje individual-). Este trabajo tiene un detenimiento especial en el efecto y espacio del sustrato sobre el crecimiento y desarrollo del frijol, junto con el análisis de evolución de fitopatologías y la aproximación a microorganismos de interés involucrados en la morfogénesis de este tipo de planta.

Etapas 1: montaje grupal de frijol

Para este montaje el enfoque principal es la evaluación cuantitativa del largo del tallo y número de hojas en función con el tiempo, junto con el desarrollo de patologías de plantas de etiología microbiana y demás propiedades biológicas.

Tabla 1: resultados de variables (largo del tallo y número de hojas) en función del tiempo para la etapa 1

Semana	Variables	
	Largo del tallo (cm)	Número de hojas
1	26,13±6,58 a	2,25±0,85 a
2	35,50±9,70 b	3,50±1,53 a
3	40,79±12,67 b, c	5,83±2,39 b
4	43,75±13,96 c	6,75±2,59 b
5	44,92±14,20 c	6,83±2,63 b
6	46,52±14,46 c	7,00±2,70 b
7	47,23±14,75 c	7,00±2,70 b

*Análisis mediante prueba Shapiro-Wilks (nivel de significancia <0,0001) y prueba Kruskal-Wallis (nivel de significancia <0,05). Walis. Los resultados están expresados en promedio ± desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas. Elaboración propia con herramientas InfoStat y Excel.

La prueba de normalidad de las variables número de hojas y largo del tallo, determinó una distribución anormal para estas ($p < 0,0001$ en ambas). A partir de esta, el análisis no paramétrico de esta prueba determinó que para la variable del largo del tallo los resultados de la semana 1 son significativamente diferentes de los resultados de la semana 2 y a su vez estos rangos son significativamente diferentes de los resultados de las semanas 3 a 7, mientras que para la variable del número de hojas los resultados de las semanas 1 y 2 son significativamente diferentes a los resultados de las semanas 3 a 7 (tabla 1). La muerte de las plantas se dio finalizando la semana 7. El análisis estadístico soporta las hipótesis inicialmente planteadas; hay

una relación directa con el tiempo de montaje con el crecimiento de la planta, donde se ve que conforme aumentan las semanas también aumenta el tamaño de la planta junto con su número de hojas, que se ve de forma significativa de la semana 1 a 3. Es importante mencionar que dentro de lo esperado se describía la ralentización del crecimiento por los factores ambientales del montaje que se determinaron, como el espacio del sustrato, la cantidad de agua y demás, que se ve soportado por la media de las variables hojas y tallo de las últimas semanas (de la semana 4 a la 7).

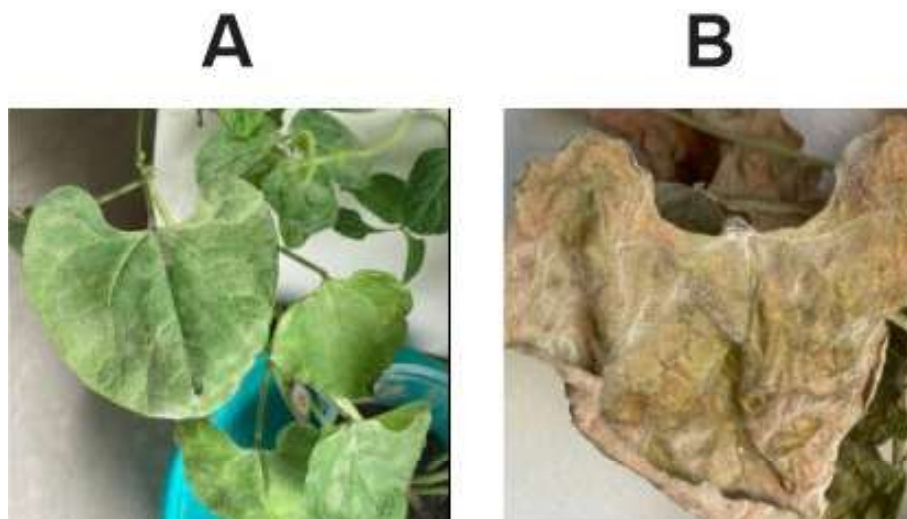
Respecto a las etapas fenológicas del frijol estas plantas lograron llegar hasta la etapa V4 (tercera hoja trifoliada) (3), pues su máximo de número de hojas

registrado corresponde a 11 y su mayor media fue de 7 (tabla 1). Teniendo en cuenta la duración de este montaje, es natural que no hubiera paso a la fase reproductiva, pues apenas estaban en proceso la cuarta y quinta hoja trifoliada (3). En una perspectiva general, los factores ambientales de clima, luz solar, riego, pH y demás fueron adecuados para estas plantas para lograr realizar una parte vital su ciclo fenológico. En cuanto a la evolución de la fitopatología con los déficits nutricionales en relación con el espacio del sustrato, la planta se vio gravemente afectada por el desarrollo de oídio (figura 1) y por clorosis, esto por el espacio en donde creció. El oídio, o mildew polvoso, es un hongo común en condiciones de sequía o baja humedad relativa y llega a la planta por la dispersión de esporas de este por el aire, obteniendo desarrollo óptimo en temperaturas entre 15°C y 27°C (12,13).

Aunque no está bien caracterizado el mecanismo de acción de los agentes etiológicos del oídio sobre las plantas que infecta, se conoce que logran tener un efecto inhibitor sobre la reacción natural en la pared celular de los tejidos vegetales, donde incluso puede llegar a adaptar la estructura y metabolismo de la célula para obtener los nutrientes y demás requerimientos de crecimiento

ideales para su desarrollo (14); a esto se le suma que la enfermedad por oídio apareció en el estado joven de la planta, condición que se ha descrito como crítica para su fisiología (4). En esta etapa el oídio fue la principal causa de muerte, teniendo una duración de aproximadamente tres semanas y que, como era de esperarse, logró evolucionar rápidamente en estas porque tenía las condiciones ideales para avanzar y tampoco tuvo inhibición de crecimiento por parte de algún fungicida.

Otro factor importante que se relaciona con las fisiopatologías de la planta y limitó drásticamente fue el espacio de desarrollo, generando notable retraso desde la semana 5 en el crecimiento de la planta, evidenciado en la elongación del tallo y la clorosis de las hojas; esta última pudo desarrollarse por el crecimiento masivo de la raíz en el reducido sustrato, alterando la disponibilidad de nutrientes suficientes, la forma de estos, la población microbiana a su alrededor e incluso posiblemente su pH (15) de todas las plantas y causando, por ende, la detención de cambios significantes en su morfología y fisiología. La clorosis unida con la fitopatología hizo que las plantas murieran de forma rápida, pero permitió conocer cómo se aventajan estos problemas de la fisiología de la planta.



Elaboración propia con la aplicación CorelDraw.

Figura 1: Fisiopatologías de las plantas de frijol del montaje grupal. A) hojas primarias con óidio avanzado. B) hoja primaria muerta con óidio y clorosis.

Etapla 2: montaje individual de frijol

La etapa 2 se enfocó el análisis en el largo del tallo y el número de hojas en función del tiempo de la potenciación

de las propiedades del sustrato con la adición de hummus de lombriz, para relacionarlo a sus etapas fenológicas junto con los microorganismos fitobenéficos y fitopatógenos de este.

Tabla 2: resultados de variables (largo del tallo y número de hojas) en función del tiempo de etapa 2

Semana	Variables	
	Largo del tallo (cm)	Número de hojas
1	6,00±6,68	0,50±1,00
2	83,33±20,43	8,67±2,31
3	113,75±7,14	12,50±1,91
4	124,50±2,78	13,67±0,58
5	129,75±0,50	16,50±1,00
6	133,00±3,46	19,00±0,00
7	145,63±1,97	19,00±0,00
8	150,17±1,04	21,67±2,31
9	153,63±0,75	21,00±0,00

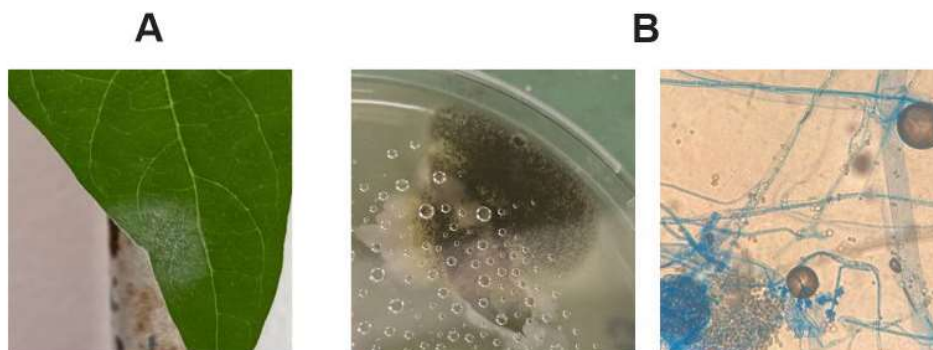
Los resultados están expresados en promedio ± desviación estándar.
Elaboración propia con herramientas InfoStat y Excel.

La planta realizó toda la fase vegetativa, desde germinación, emergencia, hojas primarias y desplegamientos hasta llegar a la etapa V4 (tercera hoja trifoliada); esta etapa es la más larga en la fase vegetativa, pues hay desplegamiento previo de las cuartas y quintas hojas trifoliadas (3). Al momento de finalización del ensayo aún no se habían desarrollado botones preflorales que indicaban paso a la fase reproductiva; la transición entre la fase vegetativa y la fase reproductiva pudo no haberse dado por las condiciones en las cuales se estableció la planta relacionados con límites de sustrato y espacio. El crecimiento sobresaliente, apreciando crecimiento lento, trae implícito que las condiciones de sustrato (tratamientos, pH y nutrientes) junto con el riego, clima y la luz solar indirecta fueron adecuados para el desarrollo de la misma; esto como era de esperarse por realizarse en la zona que tiene los factores ambientales descritos para el crecimiento de esta (16).

Las medias de largo de tallo y número de hojas cumplen con la evolución esperada del avance de la morfogénesis conforme pasan las semanas del ensayo, pues se refleja un crecimiento y desarrollo crucial en las primeras semanas (tabla 1). Las limitaciones del montaje permiten comprender el desarrollo de la planta, esto ya que los factores de espacio y sustrato fueron determinantes en el progreso de esta. Si bien hubo un crecimiento exponencial de la semana 1 a 2 (como era de esperarse), de la semana 5 a 6 se vio no se evidenció una diferencia drástica

en el crecimiento, que pudo afectar la duración de las etapas fenológicas. Sin embargo, la aplicación del abono como potenciador de las propiedades benéficas del sustrato para la planta (17) se reflejó positivamente en otro momento significativo de crecimiento en la semana 7. Las últimas dos semanas del ensayo no se notó progreso importante en el crecimiento, que encuentra justificación en la asimilación del traspaso de tratamiento. Las medias del número de hojas aumentaron poco a poco sobre el desarrollo de la planta, por lo que el único momento drástico de crecimiento fue de la primera semana; la cantidad de hojas determina etapas fenológicas del frijol, por lo que estos valores permitieron determinar que la planta completó su fase vegetativa (3).

Por otro lado, la planta desarrolló oídio (como en la etapa 1) en algunas de las hojas trifoliadas después de haberse ralentizado la morfogénesis en primer lugar, pero no fue una patología lo suficientemente agresiva para afectar el desarrollo de esta, pues se ha descrito que el ataque es crítico en plantas jóvenes más que en las plantas más maduras (4). Si bien ninguno de los agentes etiológicos del oídio pudieron ser observados en la experiencia de laboratorio de aislamiento de hongos fitopatógenos, uno de los hongos identificados pertenece al género *Aspergillus*, comúnmente asociado a las semillas de frijol como fitopatógeno que compromete la calidad de la semilla para la germinación (18).



Elaboración propia con la aplicación CorelDraw.

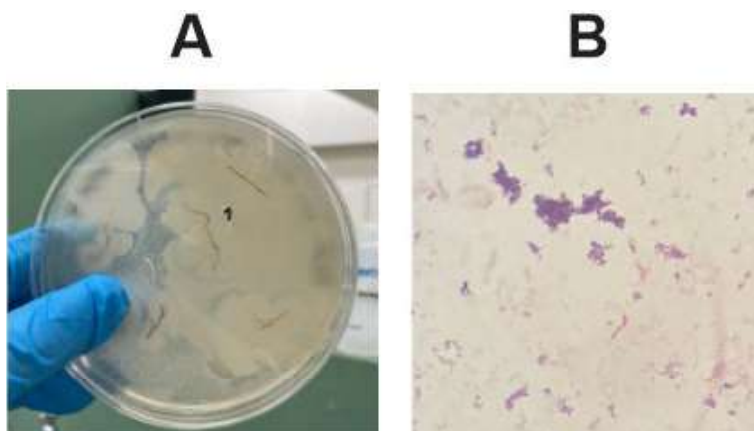
Figura 2: A) crecimiento de oídio sobre hojas trifoliadas. B) observación macroscópica de micelio en medio PDA (izquierda) y microscópica en 40X (derecha) de *Aspergillus* sp. en aislado de hongos fitopatógenos en muestras de hojas de la planta de frijol.

Finalmente, se tuvo la oportunidad de observar macro y microscópicamente los microorganismos que se encontraban en la raíz de este mediante aislamiento de microorganismos fitobenéficos. En la ubicación directa de las muestras se veían colonias planas, algo rugosas, blancas brillantes con crecimiento irregular; que al microscopio se observaban como bacilos grampositivos esporulados. Con estas características se hace la aproximación de que estas bacterias pertenecen al género *Bacillus* (19), destacado por la producción de sustancias antimicrobianas (20) y bien relacionado con la solubilización

de potasio, producción de ácido indolacético y fijación de nitrógeno (21), fundamentales para la morfogénesis de este.

Aunque la planta no alcanzó a desarrollar nódulos, estructuras importantes de las legumbres producidas por las interacciones de microorganismos del género *Rhizobium* para la fijación de nitrógeno (22), se puede afirmar que la raíz de la planta de frijol contiene gran variedad de microorganismos que promueven la nutrición adecuada de esta, aún sin tener esta estructura fijadora de nitrógeno.

Figura 3: A) crecimiento macroscópico de colonias de microorganismos del género *Bacillus* aislados de la raíz de frijol en medio PCA; B) observación microscópica de los aislados del género *Bacillus* en 40X.



Elaboración propia con la aplicación CorelDraw.

Conclusiones

La fisiología de las plantas analizadas en este ensayo es bastante amplia en componentes y procesos, por lo que muchas de las características que se observaron no se fundamentan por completo por lo abarcado en los factores determinados, sino que requiere más consideraciones para su verdadera y mejor comprensión; sin embargo, se siguen relacionando y dan una aproximación importante al ejercicio escalado de entender este proceso de forma integral como producto del aula virtual.

Para el frijol se puede concluir que es una planta que, en condiciones adecuadas de sustrato, pH y nutrientes, riego, luz solar y clima, junto con potenciadores de propiedades como el hummus de lombriz, logra avanzar positivamente en procesos como germinación y emergencia, para lograr evidenciar su

morfogénesis hasta hojas trifoliadas en este tipo de montajes en función del tiempo y las variables aplicadas en ella. Sí bien el frijol es una planta de manejo relativamente fácil a nivel de hogar, se puede notar que las fisiopatologías pueden afectarla críticamente en poco tiempo (en este caso oídio y clorosis), por lo que la identificación de estos en el desarrollo de la planta en el tiempo a través de su morfología, fisiología y factores ambientales es clave para lograr atender la enfermedad y abarcarla de la mejor forma.

Desde la perspectiva microbiológica, la participación de organismos fitobenéficos (*Bacillus* sp.) y fitopatógenos (*Aspergillus* sp.) deja entrever la importancia de las interacciones que se dan entre las poblaciones microbianas y estas plantas, determinando aspectos cruciales en el marco de análisis propuesto para este trabajo.

Referencias Bibliográficas

1. Guest DI. Plant Pathology: principles. *Encycl Appl Plant Sci*. 2017;3:129–36.
2. Cifras sectoriales de frijol. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2019.
3. Fernández F, Gepts P, López M. Etapas de desarrollo en la planta de frijol [Internet]. Frijol: investigación y producción. Programa de las Naciones Unidas (PNUD); 1985 [citado el 14 de noviembre de 2021]. p. 61–78. Disponible en: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/82106>
4. Jara CE, Cotes CA. Guía de enfermedades y plagas del fríjol en Colombia. CCAFS. 2016.
5. Vermicompost Lombec [Internet]. LOMBEC. 2019 [citado el 14 de noviembre de 2021]. Disponible en: https://www.lombec.com/producto_humus_de_lombriz.html
6. Vermicompost: un abono de alta calidad para mejorar la fertilidad del suelo. Naturland. 2011.
7. Cano MA. Una revisión de interacción de microorganismos benéficos: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. *Rev UDCA Act Div Cient* [Internet]. 2011 [citado el 14 de noviembre de 2021];14(2):15–31. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v14n2/v14n2a03.pdf>
8. Muñoz V, Cisterna V, France A. Aislamiento de microorganismos fitopatógenos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). 2020.
9. Laboratorio de suelos. Universidad Tecnológica Pereira. 2021.
10. El clima en Pereira, el tiempo por mes, temperatura promedio [Internet]. Weather Spark. 2021 [citado el 14 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://es.weatherspark.com/y/22431/Clima-promedio-en-Pereira-Colombia-durante-todo-el-año>
11. Hernández Calderón DA. Aislamiento y caracterización de bacterias endófitas asociadas a *Puya goudotiana* Bromeliaceae como antagonistas de *Botrytis cinerea* [Internet]. Universidad de La Salle. Universidad de La Salle; 2019

[citado el 14 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia>

12. Powdery mildew [Internet]. Department of Agriculture and Fisheries, Queensland. 2020 [citado el 14 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.daf.qld.gov.au/business-priorities/agriculture/plants/fruit-vegetable/diseases-disorders/powdery-mildew>
13. Tamayo P, Londoño M. Manejo integrado de enfermedades y plagas de frijol [Internet]. CORPOICA. 2001 [citado el 14 de noviembre de 2021]. Disponible en: [http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6409/1/Manejo integrado de plagas y enfermedades en frijol.pdf](http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6409/1/Manejo%20integrado%20de%20plagas%20y%20enfermedades%20en%20frijol.pdf)
14. Cómo el oídio derriba el sistema inmunológico de las plantas [Internet]. CORDIS. 2021 [citado el 14 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://cordis.europa.eu/article/id/33666-how-powdery-mildew-knocks-down-plants-defence-system/es>
15. Tinker PB, Barraclough PB. Root-Soil Interactions. Handb Environ Chem [Internet]. 1988 [citado el 14 de noviembre de 2021];2:153–75. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-39460-0_5
16. Cardona J. Dinámica del sector primario y la producción agrícola del departamento de Risaralda [Internet]. Monografias.com. 2014 [citado el 14 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.monografias.com/docs114/dinamica-del-sector-primario-y-produccion-agricola-del-departamento-risaralda/dinamica-del-sector-primario-y-produccion-agricola-del-departamento-risaralda.shtml>
17. Aguilar Benítez G, Peña Valdivia CB, García Nava JR, Ramírez Vallejo P, Gerardo Benedicto-Valdés SG, Molina-Galán JD. Rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en relación con la concentración de vermicompost y déficit de humedad en el sustrato. Agrociencia [Internet]. 2012 [citado el 14 de noviembre de 2021];46. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952012000100004
18. Martínez de la Parte E, Cantillo Pérez T, García D. Hongos asociados a semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivadas en Cuba. Biotecnol Veg [Internet]. el 18 de abril de 2014 [citado el 14 de noviembre de 2021];14(2):99–105. Disponible en: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/55>

19. Realpe ME, Arturo Hernández C, Agudelo CI. Especies del género *Bacillus*: morfología macroscópica y microscópica. Imágenes en Biomed [Internet]. 2002; Disponible en: www.ins.gov.co
20. Pedraza LA, Ernesto López C, Uribe-Vélez D, De Revisión A, Article R. Mecanismos de acción de *Bacillus* spp. (Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas. *Acta biol Colomb* [Internet]. [citado el 14 de noviembre de 2021];25(1):112–25. Disponible en: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol>
21. Constanza L, Ramírez C, Lozano LC, Angélica Gómez Méndez M, Julieth S, Rojas R, et al. *Bacillus* spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *NOVA*. 2017;15(27):45–65.
22. Fernández Luqueño F, Espinosa Victoria D. Bioquímica, fisiología y morfología de la senescencia nodular: una revisión crítica. *Terra Latinoam* [Internet]. 2008 [citado el 14 de noviembre de 2021];26(2). Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792008000200006

Ómicas para la evaluación de la microbiota presente en el queso artesanal

*Aguirre Castro Vanessa ¹, Orozco Hurtado Juan Felipe ¹,
Londoño-Giraldo Lina María ², Álvarez Aldana Adalucy ³*

RESUMEN

El queso es un derivado lácteo tradicionalmente elaborado de manera artesanal y consumido a nivel mundial, este alberga un consorcio de microorganismos, algunos de ellos conocidos como Bacterias Ácido Lácticas (BAL), conformando la microbiota del queso. Estas bacterias son de suma importancia para proporcionarle al queso propiedades organolépticas y fisicoquímicas específicas al consumidor. Las ciencias ómicas nos proporcionan diversa información sobre esa microbiota; la genómica la cual nos permite conocer genomas completos, la epigenómica que representa los cambios en la expresión génica, la proteómica con el perfil de proteínas, la transcriptómica estudia la expresión genética, la metabolómica representa el perfil de metabolitos y la microbiómica que permite determinar todos los microorganismos presentes. La aplicación integrada de estas ciencias ómicas para la investigación de la microbiota del queso, nos brinda una perspectiva más amplia y mayor entendimiento sobre los consorcios microbianos y los perfiles de metabolitos, proteínas, entre otros. A pesar de los avances en estas ómicas, falta más investigación en quesos. En este artículo se realizó una revisión de bibliografía para relacionar las diferentes ómicas y su aplicación en el estudio de la microbiota del queso.

Palabras clave: Bacterias ácido-lácticas, epigenómica, genómica, microbiota, transcriptómica, queso

-
- 1 Semillerista Microorganismos de Importancia en Salud Humana y Animal “Obvio Microbio”. Programa de Microbiología, Universidad Libre Pereira. vanessa-aguirrec@unilibre.edu.co y juanf-orozech@unilibre.edu.co
 - 2 Docente. Programa de Microbiología, Universidad Libre Pereira. linam.londonog@unilibre.edu.co
 - 3 Docente investigador. Líder Semillero Obvio Microbio. Programa de Microbiología, Universidad Libre Pereira. adalucy.alvareza@unilibre.edu.co

Omics for the evaluation of the microbiota present in the artisanal cheese

ABSTRACT

Traditionally, cheese is a dairy derivative produced in an artisanal way and consumed worldwide. Cheese is sheltering a consortium of microorganisms, some of them known as Lactic Acid Bacteria (LAB), which make up the microbiota of cheese. These bacteria are of vital importance to provide the cheese with specific organoleptic and physicochemical properties to the consumer. The omics sciences can provide us with diverse information about this microbiota; genomics which allows us to know complete genomes, epigenomics which represents the changes in gene expression, proteomics with the profile of proteins, transcriptomics studies gene expression, metabolomics represents the profile of metabolites and microbiomics which allows us to determine all the microorganisms that are present. The application of these integrated omics sciences to the investigation of the cheese microbiota gives us a broader perspective and a better understanding of the microbial consortia and the profiling of metabolites and proteins, amongst others. Despite the progress in these omics, more investigation in cheese is needed. In this article, a bibliography review was carried out to relate the performance of the different omics and their applicability in the study of cheese microbiota.

Keywords: Lactic acid bacteria, epigenomics, genomics, microbiome, transcriptomics, cheese.

INTRODUCCIÓN

El queso es un derivado lácteo y tradicionalmente ha sido elaborado de manera artesanal y está asociado directamente a la gastronomía de diferentes regiones o países. Por lo cual su producción se ha masificado en la industria láctea. La producción del queso se fundamenta en la acidificación de leche fresca cruda, este es un proceso natural que se le atribuye a la microbiota autóctona del queso, gracias a esta microbiota le otorga características de calidad en comparación con los quesos elaborados a base de leche pasteurizada (1,2).

Las bacterias ácido-lácticas (BAL, *del inglés lactic acid bacteria "LAB"*) otorgan un olor y color característico a los quesos artesanales. La legislación colombiana determina que en la elaboración del queso se debe incluir la pasteurización de la leche, este factor afecta directamente la microbiota presente incluyendo las BAL, por lo que la estrategia más común es usarlas comercialmente como cultivos iniciadores para la elaboración de estos quesos artesanales, otorgándoles características particulares sin comprometer su calidad microbiológica e higiénico sanitaria, de este modo cumpliendo con las diferentes normativas. La microbiota de estos quesos artesanales les permite tener unas características organolépticas únicas y esta puede ser estudiada a través de las ciencias ómicas (3,4).

Las ciencias ómicas permiten estudiar una gran cantidad de moléculas, que

están implicadas en el funcionamiento de los organismos o microorganismos. El avance de la tecnología ha permitido el estudio de genes en una mayor cantidad, igualmente de proteínas y metabolitos, permitiendo la creación de la genómica, proteómica, metabolómica, entre otras ciencias ómicas (5).

El estudio integrado de estas ciencias ómicas generan una perspectiva más amplia de la microbiota del queso, brindándonos la posibilidad de conocer los microorganismos allí presentes, entender cómo funcionan y cómo podemos usarlos para conservar los atributos característicos de estos quesos artesanales sin la presencia de microorganismos patógenos, para así lograr una elaboración más segura y un producto óptimo que pueda ser consumido y llegar a todos los mercados (3,6).

La genómica se basa en el análisis de secuencias de genomas completos, para así conocer la estructura genética y lo que codifica (7). La epigenómica se encarga de evaluar los efectos de las modificaciones del ADN o proteínas asociadas a este, como la acetilación, metilación, entre otras modificaciones que este puede sufrir (5,8). La transcriptómica se encarga principalmente de estudiar la expresión genética de las transcripciones que vienen de diferentes genes (5,9). Por otra parte, la proteómica se ocupa de estudiar las proteínas que se encuentran en una muestra en un momento específico (5,7). La metabolómica cuantifica al mismo tiempo diversos tipos de moléculas, de forma cuantitativa y cualitativa,

estas pueden ser aminoácidos, ácidos grasos, carbohidratos entre otros (7) Y, por último, la microbiómica que se va desarrollando rápidamente en donde se investigan todos los microorganismos de diferentes tipos de muestras (5,7). Al lograr aislar e identificar esta microbiota, se puede manipular de manera tal que se elabore un microbioma modelo que pueda ser comercializado y usado fácilmente por el sector. El objetivo de esta revisión de tema se centró en describir el papel de las ciencias “ómicas” en el estudio de la microbiota del queso artesanal. Lo anterior se encuentra proyectado como una estrategia para visibilizar las tendencias centrales de estudio en ómicas y las necesidades que persisten para el uso o mejoramiento de la microbiota en los quesos artesanales.

METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda de literatura en las bases de datos *SciElo*, *PubMed*, y *Google académico* usando los descriptores “*Bacterias ácido lácticas*”, “*queso*”, “*microbiome cheese*”, “*Transcriptomic*”, “*cheese genomic*”, “*Epigenomic*”, “*technologies*”, “*Foodomics*”, “*metagenomic*”, “*cheese*”, “*genómica*”, “*omics*”, “*food*”, “*microorganismos queso PDF*” y “*ciencias ómicas PDF*” con los operadores booleanos AND de la siguiente manera: “*Bacterias ácido lácticas*” AND “*queso*”; “*Transcriptomic*” AND “*cheese genomic*”; “*Epigenomic*” AND “*technologies*”; “*Foodomics*” AND “*cheese*”; “*omics*” AND “*food*”; “*metagenomic*” AND “*cheese*”.

Para mayor precisión, en el buscador *SciElo* se emplearon los descriptores en español así “*Bacterias ácido lácticas*” AND

“*queso*”. Con *PubMed* se usaron los descriptores en inglés “*microbiome cheese*”; “*Transcriptomic AND cheese*”; “*omics*” AND “*food*”; “*Genomic*”; “*Foodomics*” AND “*cheese*”; “*Epigenomic*” AND “*technologies*”; “*metagenomic*” AND “*cheese*”. En *GOOGLE académico* se usaron los descriptores “*ciencias ómicas pdf*”, “*microorganismos queso pdf*”.

La búsqueda se priorizó a las publicaciones relacionadas a los últimos 5 años (2016 – 2021).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un número alto de publicaciones pueden relacionarse dentro del tema de las ómicas, especialmente en los últimos años donde los avances en biología computacional han permitido analizar una mayor cantidad de datos. Así mismo al ser el queso un producto de tradición en diversas partes del mundo, lo convierte en una matriz con interés vigente. La búsqueda sistemática en las bases de datos arrojó los siguientes resultados:

SciElo: en la conjugación de “*Bacterias ácido lácticas*” AND “*queso*” arrojó 14 resultados. Con respecto al descriptor “*genómica*”, arrojó 727 resultados.

PubMed: para las palabras clave “*microbiome cheese*” se obtuvieron 426 resultados, “*Transcriptomic AND cheese*” arrojó 62 resultados, para “*Genomic*” se restringió la búsqueda a solo review, “*Foodomics*” AND “*cheese*” arrojó 8 resultados y se escogió el artículo que en su título tenía la palabra clave *Metabolomic*. En los descriptores “*Epigenomic*” AND “*technologies*” se restringió la búsqueda

a los últimos 5 años y se obtuvo 14796 resultados. Para las palabras clave “omics” AND “food” se obtuvieron 1645 resultados y para “metagenomic” AND “cheese”. se obtuvieron 75 resultados y se escogió el artículo que tenía la palabra clave *Metagenomic*.

GOOGLE académico: para “*ciencias omicas pdf*” se generaron 104.000 resultados y para “*microorganismos queso pdf*” se encontraron 401.000 artículos sin restricciones de búsqueda.

Se escogieron los artículos con una ventana de observación a los últimos 10 años y que tuvieran en sus títulos las palabras “*Queso fresco*”; “*Cheesomic*”; “*Bacterias ácido lácticas*”; “*ómicas*”; “*Cheese*”; “*Genomic*”; “*Epigenomic*”; “*Genómica*”; “*Multi-omics*”.

En la **Tabla.1** se describen los principales artículos sobre la aplicación de las ciencias ómicas en el estudio de quesos y leche.

Tabla 1. Publicaciones en revistas de alto impacto que relaciona el uso de las ómicas el análisis de quesos

Artículo	Objetivo	Autores
<i>Cheesomics: the future pathway to understanding cheese flavour and quality</i>	“Revisar la aplicación de tecnologías ómicas individuales en el queso y su integración a través de un enfoque de biología de sistemas que hemos denominado “cheesomics”.”	Afshari, R., et al. (2020) (3)
<i>Deconstructing and Reconstructing Cheese Rind Microbiomes for Experiments in Microbial Ecology and Evolution</i>	“Proporcionar un conjunto sintético de protocolos que permitirán a otros investigadores pasar de un microbioma de corteza intacto a un conjunto de cultivos microbianos caracterizados que se pueden utilizar en comunidades experimentales.”	Cosetta, C. M., et al. (2020) (6)
<i>A Combined Metabolomic and Metagenomic Approach to Discriminate Raw Milk for the production of hard cheese</i>	“Identificar los metabolitos de la leche discriminantes que fueran específicos de cada condición de régimen de alimentación y que se correlacionaran con el perfil microbiano de la leche cruda utilizada para el proceso del queso.”	Bellassi, P., et al. (2021) (10)
<i>Microbial Interactions within the Cheese Ecosystem and Their Application to Improve Quality and Safety</i>	“Mostrar enfoque en los factores bióticos y abióticos que impulsan el desarrollo y la sucesión de las poblaciones microbianas y mejorar las propiedades sensoriales y los problemas de seguridad del queso.”	Mayo, B., et al. (2021) (11)eukaryotic and viral populations, among which lactic acid bacteria (LAB
<i>Metagenomic and metatranscriptomic analysis of the microbial community in Swiss-type Maasdam cheese during ripening</i>	“Realizar el metagenoma y metatranscriptoma del queso semi-duro tipo suizo Maasdam, caracterizar la microbiota del queso, reconstruir sus genomas y comparar sus perfiles de expresión génica durante la maduración en cuartos fríos y calientes.”	Duru, I. C., et al. (2018) (12)
<i>Translating Omics to Food Microbiology</i>	“Examinar las aplicaciones de las tecnologías ómicas en la microbiología de los alimentos, con un enfoque principal en las tecnologías de secuenciación de alto rendimiento (HTS).”	Walsh, A. M., et al. (2017) (13)with a primary focus on high-throughput sequencing (HTS

EL QUESO COMO MATRIZ DE INTERÉS EN ÓMICAS

El queso se conoce como un producto *lácteo*, que surgió en sus inicios como un método de preservación de la leche sin perder sus propiedades nutritivas. Este es obtenido a partir de la coagulación de leche, dicha leche puede encontrarse cruda o ya haber pasado por un proceso de pasteurización para higienizarla, este está compuesto principalmente por la caseína presente en la leche y esta ayuda a su coagulación. Existen alrededor de 2000 variedades de quesos entre los cuales sus características nutricionales y sensoriales pueden variar (11,14).

El *Codex Alimentarius* define el queso como “*el producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior al de la leche, obtenido mediante: coagulación total o parcial de la proteína de la leche, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación*”(15).

Se estima que hace aproximadamente 8000 años inició la elaboración del queso con la domesticación de los animales para la obtención de carne, pieles o leche. La producción del queso a nivel mundial, se cree que es cercana a 20 millones de toneladas, esta cifra ha ido en aumento en los últimos 30 años,

se estima que crece en una media anual del 4% (16).

Los quesos producidos a partir de leche cruda o quesos artesanales a pesar de la industrialización de la producción del queso hace más de 3 décadas, tienen una alta demanda por parte de los consumidores debido a sus características organolépticas destacadas, esta demanda y preferencia ha crecido en los últimos años ya que estos poseen un sabor y aroma más intenso que los quesos elaborados de leche pasteurizada (17,18). Estas características organolépticas y sensoriales particulares son otorgadas principalmente por BAL, los tipos de BAL pueden variar de acuerdo con tipo de queso, el proceso y condiciones de producción y las condiciones de maduración si el queso lo requiere (18,19) present in Minas artisanal cheese (MAC).

La microbiota del queso se puede considerar un ecosistema en el cual se encuentra una gran diversidad de especies microbianas. Esta microbiota puede surgir a partir de cultivos iniciadores o verse profundamente influenciada por la manipulación que se le da a la leche, la granja, las condiciones de ordeño, el polvo, el estado de la ubre o también por las plantas de elaboración del queso (3,10). Las BAL comprenden la mayor parte de esta microbiota y tienen un papel fundamental en la fabricación y maduración del queso, otorgándole diferentes sabores y texturas

(11)eukaryotic and viral populations, among which lactic acid bacteria (LAB). El entorno de ordeño, fabricación del queso, los materiales empleados, la adición intencionada como parte del cultivo iniciador; su presencia de manera natural en los ingredientes empleados en la elaboración del queso; de estas fuentes pueden proceder la microbiota final del queso. Estas bacterias conocidas también como probióticas, se encuentran naturalmente en el queso, entre ellas encontramos a los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, dentro de estas se encuentran con efectos benéficos como el alivio a la intolerancia a la lactosa, la prevención de alergias, la reducción del colesterol en plasma, la inhibición de *Helicobacter pylori* y otros patógenos intestinales, el tratamiento de enfermedades como la diarrea asociada a antibióticos y la diarrea del viajero o afecciones inflamatorias, y la reducción del riesgo asociado a mutagenicidad y carcinogenicidad (16).

CIENCIAS OMICAS Y SU RELACIÓN CON QUESOS Y AFINES GENÓMICA

La primera ciencia ómica en desarrollarse fue la genómica, se fundamenta en el estudio de genomas completos y como se dijo anteriormente en la introducción, nos permite conocer la estructura genética y lo que codifica, igualmente identificar los genes y estudiar sus funciones en un organismo. Esta ciencia ómica, posibilita estudiar variantes genéticas específicas que se evidencia que han ayudado al entendimiento de la evolu-

ción de patógenos causantes de enfermedades (7).

La secuenciación rápida de alto rendimiento es una de las técnicas por las cuales se obtiene la secuenciación del genoma, esta técnica implica la fragmentación de todo el genoma, también la clonación de los fragmentos y la secuenciación de todos los clones. Hay algunas nuevas técnicas de secuenciación, como la pirosecuenciación, SOLiD y SOLEXA, estas nuevas técnicas han evidenciado que tienen a un costo menor que el método convencional pero las secuencias obtenidas son más cortas (20).

El genoma se describe como el conjunto completo de ADN que se encuentra en una célula, allí reposa toda la información necesaria para desarrollarse (21); para la interpretación del genoma que ya ha sido secuenciado se requieren de otras ciencias ómicas como lo es la transcriptómica y la proteómica. La primera bacteria ácido láctica a la que se le secuenció su genoma fue a *Lactococcus lactis* ssp. IL1403 en el año 2001 (3). Con el paso de los años se han secuenciado genomas de otras bacterias del grupo BAL, como *L. lactis* ssp. *cremoris* SK11 y *L. lactis* ssp. *cremoris* MG1363 y así ha seguido que ya se han secuenciado miles de genomas de BAL, estos estudios han proporcionado información muy valiosa con respecto a las funciones de los genes y la evolución que ha tenido el grupo de las BAL (3,38).

Hay otro tipo de bacterias que no pertenecen al grupo de las BAL y que se les ha secuenciado su genoma ya que también tienen efectos sobre el queso como en su sabor, los autores reportan a *Brevibacterium linens*, a dos cepas de *Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii* CIRM-BIA1 y KPA171202, estas bacterias al secuenciarle su genoma se conocieron que tienen ausencia de genes de virulencia lo que las hace estar dentro del grupo de las bacterias seguras. Los quesos que son fabricados artesanalmente tienen una población microbiana bastante diversa, de los cuales algunas bacterias no se les ha secuenciado su genoma (3).

EPIGENÓMICA

Los organismos multicelulares tienen múltiples células como su nombre lo indica, estas son genéticamente iguales pero su diferencia radica en su estructura y funcionamiento debido a que los genes se expresan de formas diferentes. Diferentes fenómenos genéticos son causados por las interacciones de los genes con su entorno, esto se conoce como epigenética (8,22).

La epigenética se encarga de estudiar los cambios hereditarios reversibles en la expresión génica sin afectar la secuencia de ADN, se traduce a un cambio en el fenotipo sin cambiar el genotipo. Las principales modificaciones genéticas conocidas son la adición de grupos metilo de los nucleótidos del ADN conocida como acetilación, la modificación de

histonas, remodelación de la cromatina y las regulaciones por ARN no codificante (22,23). Para el estudio de patrones de metilación se lleva a cabo con la acción de endonucleasas sensibles a la metilación acoplado al procedimiento de transferencia de Southern (24,25).

La mayoría de estudios epigenéticos en queso o afines, no están ligados con la matriz alimentaria sino con la producción o pérdida, y el mantenimiento a través del tiempo de la lactasa en los consumidores, lo cual se conoce como LNP (Lactasa no persistente) o LP (Lactasa persistente), en un porcentaje de la humanidad disminuyen los niveles de producción de lactasa después de que termina la fase de lactancia cuando se es recién nacido, por ello se han creado alternativas para ese consumo en etapa adulta como productos descremados y deslactosados (39,40).

PROTEÓMICA

Las proteínas son macromoléculas formadas por la unión de aminoácidos, estos aminoácidos están unidos por enlaces peptídicos y determinan el tipo de estructura tridimensional que tendrá la molécula de proteína y que función específica realizará (26). Existen cuatro tipos de estructuras, la primaria es una secuencia lineal de aminoácidos, la secundaria ocurre cuando los enlaces de hidrógeno interactúan entre sí formando hélices α y láminas β , estructura terciaria tiene una forma globular debido a enlaces de hidrógeno, interacciones

electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, y cuaternaria es la unión de dos o más cadenas polipeptídicas para formar una molécula funcional (27).

Las proteínas llevan a cabo diferentes funciones de vital importancia en el cuerpo humano, tienen grandes tareas en la célula y son necesarias para la estructura, regulación, homeostasis y demás del cuerpo. Estas pueden llevar a cabo funciones como catalizadores, pueden proporcionar protección inmunológica. Independientemente de la función que realicen, todas las proteínas están conformadas por el mismo conjunto grupo de 20 aminoácidos (26).

La proteómica se encarga del estudio de las proteínas presentes en mezclas o muestras biológicas (13) with a primary focus on high-throughput sequencing (HTS. Al momento de las proteínas ser traducidas pueden padecer modificaciones post-traduccionales, como lo pueden ser cortes, fosforilación, glucosilación entre otros. Estas modificaciones ocasionan cambios estructurales que controlan la formación de complejos funcionales proteicos (5,7).

El análisis y cuantificación de estas proteínas se realiza con diferentes técnicas, con anterioridad se han usado métodos basados en espectrometría de masas, aunque también se ha usado la espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida de alta resolución que proporciona datos cualitativos y

cuantitativos de alta precisión, también se usa la técnica ELISA y Western Blot (3,7,28).

Las proteínas son de los principales componentes de la leche, estas se pueden agrupar en tres grupos principales, primero, las micelas de caseína, segundo, las proteínas del suero, y tercero, proteínas asociadas a los glóbulos de grasa que los ayudan a proteger de la coalescencia y la lipólisis. El análisis de las diferentes proteínas en la leche es de gran interés para la industria láctea, la investigación nutricional y la biotecnología aplicada (41).

Para analizar dichas proteínas se usan diferentes técnicas como HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento), ELISA o Western Blot. Pero debido a la falta de estándares individuales de las proteínas de la leche, estas técnicas algunas veces no son absolutas ya que no detectan proteínas que son insolubles o que se encuentran en concentraciones muy bajas (28,41).

Al elaborar el queso se elimina en el lactosuero cerca del 55% de propiedades de la leche como proteínas solubles, lípidos, sales minerales y lactosa. A pesar de ello se pueden encontrar una fracción de proteínas solubles en el queso como las seroproteínas e insolubles como algunas caseínas. Según Martínez, M (42), la caseína que se conserva en el queso contiene entre 91 y 97 del valor biológico de los aminoácidos esenciales

de la leche (43). Con ayuda de la proteómica se puede determinar qué tipo de caseínas se pueden encontrar en diferentes quesos, ya que existen cuatro tipos: α 1-caseína, α 2-caseína, β -caseína y κ -caseína (44).

Las seroproteínas hacen parte de una porción de las proteínas de la leche y están conformadas por β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, inmunoglobulinas, proteosa-peptonas y seroalbúmina, en la elaboración del queso en algunas culturas suelen incorporar manualmente algunas seroproteínas manualmente ya que se han perdido en el lactosuero en la primer parte de elaboración de este como la β -lactoglobulina (45,46).

TRANSCRIPTÓMICA

La transcriptómica se encarga principalmente de estudiar la expresión genética, esta expresión genera ARNm específico de cada célula, esto hace que la transcriptómica sea muy dinámica y que se haga en un tejido y en un tiempo en específico (5,9).

Principalmente se usaban para su estudio técnicas como *Northern Blot*, reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa (RT-PCR), dichas técnicas sólo permitían un análisis cualitativo o semicuantitativo de un gen, lo que retrasaba en tiempo e insumos, al desarrollarse la RT-qPCR, (Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa) en tiempo real mejoró el rendimiento de esta técnica

permitiendo que varios transcritos se analizaran al mismo tiempo. Aunque, una de las técnicas actualmente más usadas para el estudio de la transcriptómica es con los *microarrays*, que permite la caracterización a gran escala de transcritos de forma simultánea (29).

Hoy en día, y al desarrollo de nuevas tecnologías, la transcriptómica se ha revolucionado junto a la genómica gracias a los avances en las técnicas de secuenciación del ADN, a través de tecnologías de nueva generación, NGS (del inglés *Next Generation Sequencing*). Estos nuevos desarrollos han permitido generar resultados con altos rendimientos y también disminuir sus costos, también han dejado una puerta abierta para seguir nuevos caminos para entender detalladamente la expresión genética y facilitar su entendimiento (30,31).

La transcriptómica nos ofrece una perspectiva más a fondo sobre la expresión de genes de diferentes microorganismos presentes en la microbiota del queso y las condiciones que pueden permitir o no que estos se expresen, lo cual puede incidir directamente sobre las propiedades organolépticas o fisicoquímicas del queso (47).

Diferentes estudios de transcriptómica en quesos, han revelado diferentes perfiles de expresión génica en cepas de *L. lactis* en quesos elaborados con leche pasteurizada y leche que no ha

pasado por este proceso, indicando que la pasteurización realiza cambios en la microbiota final del queso (3,48).

Gracias a un análisis transcriptómico de los genes de *Lactococcus chungangensis*, aislado de lodos, se pudo descubrir que este compartía similitudes genéticas con *L. lactis* que son relevantes en la industria láctea, como la aminohidrolasa y S-adenosilmetionina las cuales son útiles en la elaboración del queso proporcionándole características particulares a su sabor (49).

Los análisis de DNA nos brindan información de la población microbiana viva o muerta presente en las muestras, pero puede resultar en una sobreestimación de la microbiota activa, pero los análisis de su transcripción de RNA pueden revelar la capacidad de estos microorganismos de producir RNAr que finalmente les sirve para sintetizar proteínas, lo que nos revela información sobre su actividad. Con este principio se ha demostrado que la síntesis de RNAr disminuye durante los periodos de maduración de los quesos artesanales (50) which are either added as starters and adjunct cultures or originate from the production and processing environments (nonstarter or NSLAB.

Se ha demostrado que la actividad transcripcional de *Lactobacillus* y *Lactococcus* ha sido mayor en quesos elaborados con leches sometidas a calor, que en los que han sido elaborados con

leches pasteurizadas (50,51)7 and 12°C to analyze the bacterial composition and rRNA transcriptional activity reflecting the ability of lactococci and lactobacilli to synthesize proteins. Abundance and rRNA transcription of lactococci and lactobacilli were quantified after DNA and RNA extraction by using quantitative PCR (qPCR).

METABOLÓMICA

La metabolómica se considera un campo emergente en la cual se miden los cambios en los metabolitos, los cuales representan los productos finales o intermedios de diferentes procesos químicos o enzimáticos celulares indicando la respuesta a diferentes influencias genéticas y ambientales de parte de sistemas biológicos. (32). Permite estudiar diferentes compuestos de bajo peso molecular involucrados en el metabolismo, como lo son los carbohidratos, lípidos, aminoácidos, ácidos orgánicos, tioles, que se consideran como metabolitos (10,32).

La metabolómica puede verse influenciada por factores tanto internos como externos, gracias a su estudio se puede determinar qué condiciones influyen en el proceso de formación de estos metabolitos y en qué estado del organismo se producen, generalmente para este análisis se puede estudiar el perfil metabólico en el cual se realiza un análisis de los metabolitos que participan en rutas metabólicas específicas o que tienen propiedades similares, y la huella

metabólica en esta lo que se realiza es la obtención de señales de metabolitos de muestras específicas (33).

Hoy en día para el estudio de la metabolómica se usan técnicas analíticas que entre ellas se encuentra la espectrometría de masas (MS) y la resonancia magnética nuclear (RMN). También se siguen estudiando otras técnicas alternativas entre ellas La electroforesis capilar (CE) acoplada a masas (MS) y la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). Con respecto a la MS se ha consolidado últimamente como la herramienta esencial para poder analizar los metabolitos, esta técnica necesita de una pre-preparación para su posterior evaluación, entre ellas se encuentran la cromatografía de gases (GC) o cromatografía de líquidos (LC) (34).

En estudios recientes se ha demostrado que el consumo de productos lácteos tiene actividad antiinflamatoria, esto se debe a los lípidos lácteos. Esta actividad antiinflamatoria puede evitar que se desencadenen otro tipo de enfermedades crónicas debido a la inflamación como las enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y la obesidad. Entre los lípidos lácteos que se han estudiado se encuentran ácido α -linolénico, ácido docosahexaenoico, ácido eicosapentaenoico, ácido linoleico y sus derivados (52).

Uno de los estudios que se han realizado trata sobre la capacidad de inhibir la

agregación plaquetaria inducida por el factor de activación de plaquetas (FAP, *del inglés platelet-activating factor "PAF"*) en la leche de vaca y el yogur. Igualmente, también se han estudiado la actividad antiinflamatoria de quesos de origen de oveja tradicionalmente griegos llamados Ladotyri y Kefalotyri que tienen su actividad contra la agregación plaquetaria inducida. Y un estudio que reportan los autores realizaron mediante cromatografía de capa fina destacan que los derivados lipídicos de esfingomielina, fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina son las fracciones lipídicas más biológicamente activas. Estos efectos se le han atribuido a la fermentación que hacen algunas BAL (52).

MICROBIÓMICA

La microbiómica permite investigar todos los microorganismos de diferentes tipos de muestra, entre ellos, la piel humana, superficies mucosas y el intestino, que se sabe que están habitados por microorganismos, entre estos lugares se pueden encontrar bacterias, virus y hongos y son comúnmente conocidos como microbiota, por lo tanto, sus genes constituyen el microbioma (5,7). Igualmente, busca caracterizar las interacciones entre el microbioma y el huésped (35).

El microbioma es vital para la homeostasis energética, el metabolismo, la salud del epitelio intestinal, la actividad inmunológica y el desarrollo

neurológico. Algunos factores como la dieta, el medio ambiente, las intervenciones médicas y estados patológicos pueden ocasionar cambios significativos en el microbioma del huésped (35,36).

Gracias al desarrollo de las nuevas tecnologías de secuenciación de ADN de alto rendimiento, y los avances en bioinformática, el campo de la microbiómica se ha revolucionado. Estos métodos involucran la amplificación y secuenciación de regiones de ADN microbiano objetivo y el análisis estadístico de identidad y diversidad microbiana (35,37).

La comunidad microbiana en el queso puede ser muy diversa, esta puede variar tanto en centro del queso como en la superficie, como ya se había mencionado antes, estos microorganismos proporcionan diferentes funciones entre ellas se destacan la vida útil, sus calidades organolépticas, sus nutrientes, entre otros por una gran variedad de microorganismos por lo cual se hace importante conocer y comprender la microbiota variada presente, junto con su impacto en la calidad y seguridad del alimento (53).

Se han utilizado diferentes métodos moleculares para la identificación de esta comunidad microbiana, entre ellos se encuentra la secuenciación de alto rendimiento (HTS), ya que esta brinda información valiosa que se encuentra relacionada con la geografía, cuales

fueron los procesos de fabricación, sus condiciones climáticas. En un estudio demostraron que las bacterias influyen y se involucran en el color, aroma, y el sabor del queso, los autores reportan a *Brevibacterium linens*, *Staphylococcus equorum*, y las BAL como *Lactococcus lactis*, *Lactococcus chungangensis/raffinolactis*, y *Lactobacillus casei/paracasei*, ya que estas bacterias se ven involucradas en el metabolismo de las proteínas y grasas (53,54). De los 28 municipios del departamento de Córdoba-Colombia, durante los años 2012-2013. Se evaluaron las características organolépticas de 360 muestras y, mediante análisis microbiológico se determinó la presencia de coliformes totales, fecales, *Staphylococcus coagulasa* positiva y hongos. Los resultados se analizaron utilizando estadísticas univariadas y bivariadas con sus respectivas medidas de asociación según la naturaleza de cada variable (Programa EPI-INFO V. 6.04®).

CONCLUSIÓN

El papel de las ciencias “ómicas” para el estudio de la microbiota del queso artesanal tiene cierta tendencia mundial acorde a la disponibilidad de plataformas analíticas. La mayoría de los estudios pueden encontrarse en las ómicas clásicas como genómica ó proteómica los cuales han sentado las bases para el reconocimiento de la diversidad de las BAL que componen este tipo de matriz. Los estudios recientes en

transcriptómica y metabolómica han mejorado la comprensión de los mecanismos metabólicos y epigenéticos que pueden influenciar los consorcios de las bacterias hasta la calidad fisicoquímica y sensorial del queso como producto terminado. Sin embargo, la microbiómica posiblemente será el

enfoque que más se desarrollará en un enfoque integral para la prospección de bacterias y demás microorganismos que puedan ser utilizados en procesos de producción y la calidad higiénico-sanitaria de productos como los quesos artesanales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Merchán Castellanos NA, Pineda Gómez LM, Cárdenas Parra AK, González Neiza NC, Otálora Rodríguez MC, Neira YS. Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. *Rev Cubana Hig Epidemiol* [Internet]. 2018;56. Available from: <http://www.revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171/260>
2. Carchi MRN. Uso de cuajo vegetal (Leche de Higo Verde - *Ficus Carica* Linnaeus) para la elaboración de queso fresco. 2011;4(3):410–9. [Internet]. Available from: <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/3258>
3. Afshari R, Pillidge CJ, Dias DA, Osborn AM, Gill H. Cheesomics: the future pathway to understanding cheese flavour and quality. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2018;0(0):1–15. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1512471>
4. Vanegas Mf, Londoño Zapata A, Durango Zuleta M, Gutiérrez Buriticá M, Ochoa Agudelo S, Sepúlveda Valencia J. Capacidad Antimicrobiana De Bacterias Ácido Lácticas Autóctonas Aisladas De Queso Doble Crema Y Quesillo Colombiano. *Biotecnología en el Sect Agropecu y Agroindustrial*. 2017;15(1):45. [Internet]. Available from: [https://doi.org/10.18684/BSAA\(15\)45-55](https://doi.org/10.18684/BSAA(15)45-55)
5. Frigolet ME, Gutiérrez-Aguilar R. Ciencias “ómicas”, ¿cómo ayudan a las ciencias de la salud? *Rev Digit Univ*. 2017;18(7):0–15. [Internet]. Available from: <http://revista.unam.mx/vol.18/num7/art54/index.html>
6. Cosetta CM, Wolfe BE. Deconstructing and Reconstructing Cheese Rind Microbiomes for Experiments in Microbial Ecology and Evolution. 2019;56:1–31. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1002/cpmc.95>
7. Hasin Y, Seldin M, Lusi A. Multi-omics approaches to disease. *Genome Biol*. 2017;18(1):1–15. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1215-1>
8. Wang KC, Chang HY. Epigenomics: Technologies and Applications. 2018;1191–200. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1161/circresaha.118.310998>

9. García-vallejo F. La genómica nutricional: un nuevo paradigma de la investigación de la nutrición humana. 2004;35:157–67. [Internet]. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=28300306>
10. Bellassi P, Rocchetti G, Nocetti M, Lucini L, Masoero F, Morelli L. A combined metabolomic and metagenomic approach to discriminate raw milk for the production of hard cheese. *Foods*. 2021;10(1). [Internet]. Available from: <https://dx.doi.org/10.3390%2Ffoods10010109>
11. Mayo B, Rodríguez J, Vázquez L, Flórez AB. Microbial interactions within the cheese ecosystem and their application to improve quality and safety. *Foods*. 2021;10(3). [Internet]. Available from: <https://dx.doi.org/10.3390%2Ffoods10030602>
12. Duru IC, Laine P, Andreevskaya M, Paulin L, Kananen S, Tynkkynen S, et al. Metagenomic and metatranscriptomic analysis of the microbial community in Swiss-type Maasdam cheese during ripening. *Int J Food Microbiol*. 2018;281(December 2017):10–22. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.017>
13. Walsh AM, Crispie F, Claesson MJ, Cotter PD. Translating Omics to Food Microbiology. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2017;8(December 2016):113–34. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-025729>
14. Ramírez López C, Vélez Ruiz J. Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas Sel Ing Aliment*. 2014;2(June 2016):18. [Internet]. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/303959697>
15. FAO/OMS. Norma general para el queso. *Codex Alimentarius*, CXS 283-1978. 2018;1–26.
16. Santamarina-García G, Fresno J, Virto M, Amores G, Aranceta J. La microbiota del queso y su importancia funcional. *Rev esp nutr comunitaria*. 2020;26(4):0–0. [Internet]. Available from: <http://dx.doi.org/10.14642/RENC.2020.26.4.5344>
17. Zoumpopoulou G, Papadimitriou K, Alexandraki V, Mavrogonatou E, Alexopoulou K, Anastasiou R, et al. The microbiota of Kalathaki and Melichloro Greek artisanal cheeses comprises functional lactic acid bacteria. *Lwt*.

2020;130(May):109570. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109570>

18. Rodrigues Araújo H, Tavaría K F, Dos Santos MT, Alvarenga N, Pintado MM. A review on microbiological and technological aspects of Serpa PDO cheese: An ovine raw milk cheese. *Int Dairy J*. [Internet]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104561>
19. Almeida TT, Andretta M, Ferreira LR, Carvalho AF de, Nero LA. The complex microbiota of artisanal cheeses interferes in the performance of enumeration protocols for lactic acid bacteria and staphylococci. *Int Dairy J*. 2020;109:104791. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104791>
20. Rittmann BE, Krajmalnik-Brown R, Halden RU. Pre-genomic, genomic and post-genomic study of microbial communities involved in bioenergy. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2008 Aug 7;6(8):604–12. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrmicro1939>
21. Lamolle G, Musto H. Genoma Humano. Aspectos estructurales. *An la Fac Med* [Internet]. 2018 Oct 28;5(2):12–28. Available from: <http://www.anfamed.edu.uy/index.php/rev/article/view/367>
22. Saito Y. Comparative epigenomics. *Encycl Bioinforma Comput Biol ABC Bioinforma*. 2018;1–3:354–62. [Internet]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20112-X>
23. Corella D, Ordovás J. Papel de las ómicas en la nutrición de precisión: fortalezas y debilidades. *Nutr Hosp*. 2018;35(4). [Internet]. Available from: <https://dx.doi.org/10.20960/nh.2119>
24. Janssen KA, Sidoli S, Garcia BA. Recent Achievements in Characterizing the Histone Code and Approaches to Integrating Epigenomics and Systems Biology. 1st ed. Vol. 586, *Methods in Enzymology*. Elsevier Inc.; 2017. 359–378 p. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2016.10.021>
25. Sánchez-Álvarez JP, Acevedo-Toro PA. Principales herramientas epigenéticas para el diagnóstico y seguimiento de neoplasias hematológicas. *Med y Lab*. 2015;21(1–2):43–62. [Internet]. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-907751>

26. Rizwan HK, Siddiqi MK, Salahuddin P. Protein Structure and Function. *Essent Cell Biol.* 2017;(April):121–70. [Internet]. Available from: https://www.google.com.co/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cad=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKewi834rtgPz2AhX1RTABHRf-HAA8QFnoECAMQAQ&url=https%3A%2F%2Faustinpublishinggroup.com%2Fbooks%2Fbasic-biochemistry%2Fchapters%2FBBC-17-12.pdf&usg=AOvVaw35hHdgFOHZTOHq_p0GYsr4
27. Jessica M, Goodsell D. What is a Protein? Protein Data Bank. 2019;
28. Schwendel BH, Wester TJ, Morel PCH, Fong B, Tavendale MH, Deadman C, et al. Pasture feeding conventional cows removes differences between organic and conventionally produced milk. *Food Chem.* 2017;229:805–13. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.104>
29. Gironella Cos M. Nuevos métodos de diagnóstico molecular Transcriptómica (mARN y miR). *Gh Contin* [Internet]. 2010;9(4):155–65. Available from: https://colombia.unfpa.org/sites/default/files/pub-pdf/infografia-2-semana_andina.pdf
30. Ward JA, Ponnala L, Weber CA. Strategies for transcriptome analysis in non-model plants. *Am J Bot* [Internet]. 2012 Feb;99(2):267–76. Available from: <http://doi.wiley.com/10.3732/ajb.1100334>
31. Soto Sedano JC, López Carrascal CE. RNA-seq: herramienta transcriptómica útil para el estudio de interacciones planta-patógeno. *Fitosanidad.* 2012;67(1):57–62. [Internet]. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209126216009>
32. Saavedra-Charca W, Vásquez-Villalobos V, Rojas-Padilla C. Técnicas analíticas empleadas en metabolómica de alimentos. *Agroindustrial Sci.* 2015;(March 2016):191–210. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2015.02.11>
33. Santos Acunha T. Metabolómica De Compuestos Bioactivos: Nuevos Desarrollos Metodológicos Y Aplicaciones. 2017;105. [Internet]. Available from: <http://hdl.handle.net/10261/196095>
34. Mier García L, Alonso Herrada J, Gutiérrez Ramos X, Vázquez Moreno MJ, Hernández Salazar M, Feregrino Pérez AA, et al. Participación De Las Ciencias

Analíticas Modernas (Genómica, Proteómica, Metabolómica) En El Estudio De Las Plantas. *Ciencia@Uaq*. 2012;5(1):40–50. [Internet]. Available from: https://www.google.com.co/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cad=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjCjI-hgvz2AhUITDABHdB-Ac-MQFnoECAQQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.uaq.mx%2Finvestigacion%2Frevista_ciencia%40uaq%2FArchivosPDF%2Fv5-n1%2Farticulo5.pdf&usg=AOvVaw3H3KmcF_TgdW0qlF_m_7Xv

35. Barko PC, McMichael MA, Swanson KS, Williams DA. The Gastrointestinal Microbiome: A Review. *J Vet Intern Med* [Internet]. 2018 Jan;32(1):9–25. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jvim.14875>
36. Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease. *Curr Opin Gastroenterol* [Internet]. 2015 Jan;31(1):69–75. Available from: <http://journals.lww.com/00001574-201501000-00012>
37. Ouwehand AC, Salminen S, Arvola T, Ruuska T, Isolauri E. Microbiota Composition of the Intestinal Mucosa: Association with Fecal Microbiota? *Microbiol Immunol* [Internet]. 2004 Jul;48(7):497–500. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1348-0421.2004.tb03544.x>
38. Dugat-Bony E, Straub C, Teissandier A, Onésime D, Loux V, Monnet C, et al. Overview of a Surface-Ripened Cheese Community Functioning by Meta-Omics Analyses. Ercolini D, editor. *PLoS One* [Internet]. 2015 Apr 13;10(4):e0124360. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0124360>
39. Comerford KB, Pasin G. Gene–dairy food interactions and health outcomes: A review of nutrigenetic studies. *Nutrients*. 2017;9(7). [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu9070710>
40. Anguita-Ruiz A, Aguilera CM, Gil Á. Genetics of lactose intolerance: An updated review and online interactive world maps of phenotype and genotype frequencies. *Nutrients*. 2020;12(9):1–20. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu12092689>
41. Bär C, Mathis D, Neuhaus P, Dürr D, Bisig W, Egger L, et al. Protein profile of dairy products: Simultaneous quantification of twenty bovine milk proteins. *Int Dairy J*. 2019;97:167–75. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.01.001>

42. Martínez MG. Desarrollo de un proceso para la elaboración de queso con bajo colesterol. 2016; [Internet]. Available from: <http://eprints.uanl.mx/14319/>
43. Walther B, Schmid A, Sieber R, Wehrmüller K. Cheese in nutrition and health. *Dairy Sci Technol*. 2008;88(4–5):389–405. [Internet]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1051/dst:2008012>
44. Guevara Garay LA, Cuartas Castaño DA, Llano Naranjo F. Kappa caseína de la leche: aspectos bioquímicos, moleculares, productivos y nutricionales. [Internet]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/317502539_Kappa_casein_of_milk_productive_molecular_biochemical_and_nutritional_aspects
45. Sulca Fernández CC. Efecto De La Incorporación De Las Proteínas Séricas En El Proceso De Queso Fresco. *Pap Knowl Towar a Media Hist Doc*. 2014; [Internet]. Available from: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/3408>
46. Arce-Méndez JR, Thompson-Vicente E, Calderón-Villaplana S. Incorporación de la proteína del suero lácteo en un queso fresco. *Agron Mesoam*. 2015;27(1):61. [Internet]. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43743010006>
47. Li L, Yang X, Hong R, Liu F. Combined proteomics and transcriptomics analysis of *Lactococcus lactis* under different culture conditions. 2021 [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18895>
48. Larsen N, Moslehi-Jenabian S, Werner BB, Jensen ML, Garrigues C, Vogensen FK, et al. Transcriptome analysis of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* during milk acidification as affected by dissolved oxygen and the redox potential. *Int J Food Microbiol*. 2016;226:5–12. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.002>
49. Konkitt M, Kim JH, Bora N, Kim W. Transcriptomic analysis of *Lactococcus chungangensis* sp. nov. and its potential in cheese making. *J Dairy Sci*. 2014;97(12):7363–72. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8299>
50. Blaya J, Barzideh Z, LaPointe G. Symposium review: Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment1. *J Dairy*

Sci. 2018;101(4):3611–29. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13345>

51. Desfossés-Foucault É, LaPointe G, Roy D. Dynamics and rRNA transcriptional activity of lactococci and lactobacilli during Cheddar cheese ripening. *Int J Food Microbiol.* 2013;166(1):117–24. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.022>
52. Lordan R, Zabetakis I. Invited review: The anti-inflammatory properties of dairy lipids. *J Dairy Sci* [Internet]. 2017 Jun;100(6):4197–212. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28342603>
53. Yeluri Jonnala BR, McSweeney PLH, Sheehan JJ, Cotter PD. Sequencing of the Cheese Microbiome and Its Relevance to Industry. *Front Microbiol* [Internet]. 2018 May 23;9. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.01020/full>
54. Ruíz Pérez RA, Menco Morales NY, Chams Chams LM. Valoración microbiológica de queso costeño artesanal y evaluación higiénico-locativa de expendios en Córdoba, Colombia. *Rev Salud Pública* [Internet]. 2017 May 1;19(3):311–7. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revsaludpublica/article/view/54853>