

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



USO DE MICROALGAS AISLADAS DEL DESIERTO, COMO PROTECCIÓN
SOLAR EN UNA FORMULACIÓN DE CONIDIOS DE *BEAUVERIA BASSIANA*

POR

MARCELA LILIANA SOSA FLORES

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE Maestra en
Ciencias con Orientación en Microbiología

2025

**USO DE MICROALGAS AISLADAS DEL DESIERTO COMO
PROTECCIÓN SOLAR EN UNA FORMULACIÓN DE CONIDIOS DE
*BEAUVERIA BASSIANA***

Comité de Tesis



Dr. Alonso Alberto Orozco Flores

Director de Tesis



Dr. Aldo Rodrigo González Luna

Secretario



Dra. Deyanira Quistián Martínez

Vocal 1



Dra. Julissa Ek Ramos

Vocal 2



Dr. José Alberto Valadez Lira

Vocal 3




Dra. Katiushka Arévalo

SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO

Subdirectora de Posgrado

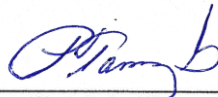
USO DE MICROALGAS AISLADAS DEL DESIERTO COMO PROTECCIÓN
SOLAR EN UNA FORMULACIÓN DE CONIDIOS DE *BEAVERIA BASSIANA*

Dirección de tesis



Dr. Alonso Alberto Orozco Flores

Director de Tesis



Dra. Patricia Tamez Guerra

Directora Externa

DERECHOS RESERVADOS© PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL
Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a la ciencia, tecnología e innovación y Tecnológica, ProACTI, UANL 60-CA-2023

Agradecimientos

Primeramente, agradezco a la Facultad de Ciencias Biológicas y a la Unidad de Formulación de Biológicos y Acarreadores de Drogas del Laboratorio de Inmunología y Virología, por brindarme el espacio y los recursos necesarios para desarrollar este trabajo. Gracias por el acceso que se me brindó a los insumos y materiales que permitieron llevar a cabo mis experimentos.

Agradezco también a mi asesor el Dr. Alonso Orozco y al resto de mi comité de tesis por su orientación durante este proceso. A pesar de los desafíos que surgieron en el camino, cada obstáculo representó una oportunidad de aprendizaje y crecimiento personal.

A Rosa Flores, por ser una compañera invaluable en este camino, por su apoyo tanto en el laboratorio como fuera de él, y por estar siempre dispuesta a ayudar. A Angello Martínez, cuyo compromiso y amistad hicieron que nunca me faltara nada en el laboratorio, gracias por la paciencia y disposición para facilitar mi trabajo.

A María del Pilar Flores Segovia y Edgar Sosa Padrón, mis padres, quienes son el motor de mi vida. A ustedes les debo todo lo que soy y todo lo que he logrado. Gracias por su amor, por su paciencia y por nunca dejar de creer en mí. Esta tesis es tan suya como mía.

A mi novio Javier Adrián, por haber sido un apoyo crucial durante esta etapa, por darme fuerza cuando sentí que no podía continuar y por ayudarme a ver las cosas desde otra perspectiva y brindarme calma. Gracias por ayudarme a convertirme en una mejor versión de mí misma, todo esto hizo que pudiera continuar hacia adelante.

Y a Mika, mi compañera perruna incansable, que con su presencia en esos días de larga escritura llenó de alegría mis días y me acompañó en los momentos en los que más necesitaba consuelo.

Por último, quisiera agradecer a mi resiliencia durante este camino, no fue sencillo, y agradezco mucho que estuvo lleno de oportunidades de aprendizaje, lo cual me ayudó a tener mucho crecimiento, no solamente en el ámbito científico si no también personalmente. Aprendí muchas cosas que no sabía o que ignoraba, y el día de hoy puedo decir que de esta maestría no solo me llevo el gran conocimiento que me fue brindado, sino también un gran crecimiento personal que me hizo ver las cosas desde otro punto de vista. Muchas gracias por esta oportunidad, me llevo un gran sentimiento de satisfacción y alegría de todo esto.

ÍNDICE

RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUCCIÓN	11
2. ANTECEDENTES	12
2.1 <i>Beauveria bassiana</i> : biología y mecanismo de acción en el control de plagas	12
2.1.1 Impacto de la luz UV en <i>Beauveria bassiana</i>	12
2.2 Microalgas: Características, aislamiento y usos en la agricultura	13
2.2.1 Microalgas de ambientes desérticos: adaptaciones y potencial uso	14
2.3. Formulaciones para la protección de agentes biológicos.....	14
2.3.1 Adherentes.....	14
2.3.2 Fagoestimulantes	15
2.3.3 Antioxidantes.....	16
2.3.4. Sustancias fotoprotectoras	17
2.3.5 Uso de microalgas como agentes protectores y su aplicación en biocontrol	18
3. JUSTIFICACIÓN	20
4. HIPÓTESIS	21
5. OBJETIVOS DEL TRABAJO	22
5.1 Objetivo general	22
5.2 Objetivos específicos	22
6. MATERIAL Y MÉTODOS	23
6.1 Material biológico	23
6.1.1 Microalgas empleadas	23

6.1.2 Producción de biomasa.....	23
6.2 Selección de las cepas de microalgas con mayor tolerancia a la radiación UV	23
6.2.1 Exposición a la luz UV.....	23
6.2.2 Viabilidad de conidios por MTT	24
6.3 Efectividad como protector contra la luz UV de conidios de <i>B. bassiana</i> , por la biomasa de la cepa seleccionada.....	24
6.3.1 Preparación de tratamientos de conidios con biomasa de microalgas.....	24
6.3.2 Exposición de conidios a la luz UV-C	25
6.3.3 Viabilidad de conidios expuestas a la luz UV-C.....	25
6.4 Actividad antioxidante de la biomasa de la microalga RAD3	25
6.5 Formulación en emulsión utilizando biomasa de microalgas y conidios de <i>B. bassiana</i>	26
6.5.1 Preparación de formulado en emulsión	26
6.5.2 Tolerancia a la luz solar de la formulación con biomasa de microalgas..	27
6.6 Análisis estadísticos	27
7. RESULTADOS	28
7.1 Selección de las cepas de microalgas con mayor tolerancia a la radiación UV	28
7.2 Efectividad como protector contra la luz UV de conidios de <i>B. bassiana</i> , por la biomasa de la cepa seleccionada.....	29
7.3 Actividad antioxidante de la biomasa de la microalga RAD3	30
7.4. Protección a la luz solar de la formulación con biomasa de microalgas.....	31
8. DISCUSIÓN.....	34
9. CONCLUSIONES	40
10. PERSPECTIVAS.....	41

11. BIBLIOGRAFÍA	42
------------------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ingredientes del preparado en emulsión con base en una formulación de aceite-agua (O/W) su función y porcentaje.	26
Tabla 2. Resultados de la captación del radical DPPH para muestras a diferentes concentraciones de ácido ascórbico y RAD3	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Viabilidad de las cepas de microalgas expuestas a la luz UVC:.....	28
Figura 2. Viabilidad de conidios expuestos a la luz UV-C en campana de flujo laminar.	30
Figura 3. Inhibición del radical DPPH para muestras a diferentes concentraciones de ácido ascórbico y de la microalga RAD3.	31
Figura 4. Viabilidad de conidios de tres tratamientos expuestos a la luz solar.	33

RESUMEN

Las plagas agrícolas representan un desafío crítico para la producción sostenible de alimentos, destacando la necesidad de estrategias de control biológico más efectivas. *Beauveria bassiana*, un hongo entomopatógeno, es una alternativa prometedora debido a su especificidad y seguridad ambiental. Sin embargo, su efectividad en campo se ve limitada por su susceptibilidad a la radiación ultravioleta (UV). Este estudio investigó el uso de biomasa de microalgas aisladas de ambientes desérticos como protectores UV para conidios de *B. bassiana*, con el objetivo de mejorar su viabilidad y eficacia bajo condiciones ambientales adversas. El objetivo principal fue evaluar el potencial de las microalgas como agentes protectores solares en la formulación de conidios de *B. bassiana*. La cepa RAD3 (caracterizada como *Chlorella* sp.) demostró la mayor tolerancia a la radiación UV, manteniendo una viabilidad del 95.73% durante los primeros 10 min de exposición y un 40% tras 90 min. En estudios de laboratorio, la biomasa de RAD3, procesada por homogenización y sonicación, incrementó en un 15% la viabilidad de los conidios expuestos a radiación UV. Una formulación en emulsión basada en RAD3 y *B. bassiana* alcanzó niveles de protección comparables a protectores comerciales como Blankophor a nivel de campo. En conclusión, el uso de biomasa de *Chlorella* sp. RAD3, como protector solar en formulaciones de *B. bassiana*, representa una estrategia ecológica y eficiente para mitigar los efectos adversos de la radiación, posicionándose como una alternativa prometedora en el control biológico de plagas en condiciones de campo. Esto contribuye al desarrollo de tecnologías sostenibles para la agricultura.

ABSTRACT

Agricultural pests represent a critical challenge for sustainable food production, demanding more effective biological control strategies. *Beauveria bassiana*, an entomopathogenic fungus, is a promising alternative due to its specificity and environmental safety. However, its field effectiveness is limited by its susceptibility to ultraviolet (UV) radiation. This study investigated the use of biomass from microalgae isolated from desert environments as UV protectants for *B. bassiana* conidia, aiming to improve their viability and efficacy under adverse environmental conditions.

The primary objective was to evaluate the potential of microalgae as natural UV protectants in the formulation of *B. bassiana* conidia. The RAD3 strain (characterized as *Chlorella sp.*) showed the highest UV tolerance, achieving 95.7% conidia viability during the first 10 min of exposure and 40% after 90 min. In laboratory, the biomass of RAD3, processed through homogenization and sonication, increased conidial viability by 15% under UV radiation. An emulsion-based formulation combining RAD3 and *B. bassiana* achieved protection levels comparable to commercial UV protectants such as Blankophor in field tests.

In conclusion, the use of *Chlorella sp.* RAD3 biomass, as a solar protective component in *B. bassiana* formulations, represents an eco-friendly and efficient strategy to mitigate the adverse effects of solar radiation, positioning itself as a promising alternative for biological pest control under field conditions. This approach contributes the development of sustainable technologies for agriculture.

1. INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de herramientas más sostenibles y eficaces para el control de plagas en la agricultura, los agentes de control biológico microbiano como bacterias, hongos nematodos y virus entomopatógenos han surgido como una prometedora alternativa a los plaguicidas químicos convencionales al ser más selectivos con un impacto ambiental reducido; no dañan a organismos benéficos, ni contaminan los recursos naturales, y son menos propensos al desarrollo de resistencia debido a su modo de acción. Este tipo de control biológico ha demostrado ser eficaz en la reducción de plagas en cultivos agrícolas, lo que contribuye a la seguridad alimentaria y a la disminución de residuos químicos en los alimentos (Guo *et al.*, 2020; Tay *et al.*, 2023).

Las plagas agrícolas continúan siendo un desafío global, ya que afectan gravemente la producción de cultivos de la canasta básica como el maíz, el arroz y el algodón. Por ejemplo, el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), es una de las plagas más dañinas en cultivos de maíz en América, África y Asia, causando pérdidas económicas significativas. Además, la resistencia de estas plagas a los pesticidas químicos ha intensificado la búsqueda de soluciones alternativas, como el uso de agentes biológicos.

De los microorganismos entomopatógenos los más importantes son los hongos *Metarhizium* spp. y *Beauveria bassiana*, los virus de la familia baculoviridae, o bacterias como *Bacillus thuringiensis*. A pesar de los avances en su empleo en la agricultura, su principal desafío es su supervivencia en entornos naturales, particularmente la radiación ultravioleta (UV).

La luz UV puede dañar directamente el ADN de estos microorganismos y reducir su efectividad al eliminar su capacidad de infectar insectos. Por tanto, uno de los principales obstáculos en la implementación de estos agentes en el campo, es mejorar su resistencia a las condiciones ambientales adversas.

Las microalgas, particularmente aquellas aisladas de ambientes extremos como los desiertos, presentan una capacidad notable para tolerar condiciones climáticas adversas, incluida la radiación UV. Se ha sugerido que las microalgas pueden actuar como de un protector solar natural (Santesteban-Romero *et al.*, 2022; Zhuang *et al.*, 2022). Por lo cual evaluamos la capacidad de la biomasa de las microalgas de ambientes desérticos como protectores solares de conidios de *B. bassiana* expuestos a la luz UV.

2. ANTECEDENTES

2.1 *Beauveria bassiana*: biología y mecanismo de acción en el control de plagas

Beauveria bassiana es un hongo entomopatógeno ampliamente utilizado en el control biológico de plagas debido a su capacidad de infectar y matar una amplia gama de insectos. Este hongo actúa principalmente mediante la penetración de la cutícula del insecto, utilizando una combinación de fuerza mecánica y enzimas degradadoras como quitinasas, lipasas y proteasas (Wang *et al.*, 2021). Estas enzimas permiten que las hifas del hongo atraviesen la barrera protectora del insecto y accedan a su hemolinfa, en donde *B. bassiana* prolifera y libera toxinas letales como beauvericina, bassianina y oxalato de calcio. Estas toxinas interfieren con el sistema inmunológico del insecto, lo que lleva a la muerte del huésped en un proceso que puede durar entre 3 y 7 días, dependiendo de las condiciones ambientales y del insecto infectado. Una vez que el hongo ha penetrado la cutícula, se disemina rápidamente por el cuerpo del insecto, agotando sus recursos energéticos y provocando disfunciones fisiológicas graves, lo que eventualmente resulta en la muerte del insecto (Sinno *et al.*, 2021). Este mecanismo de acción lo hace particularmente efectivo contra una variedad de plagas agrícolas, incluidas aquellas resistentes a pesticidas químicos. El uso de *B. bassiana* tiene la ventaja de ser altamente específico, lo que significa que tiene un impacto mínimo en organismos no objetivo y en el medio ambiente.

En investigaciones recientes por Sinno *et al.* (2021), se ha puesto un gran énfasis en mejorar la virulencia de *B. bassiana* a través de la ingeniería genética y la selección de cepas más virulentas. Los avances en la biotecnología han permitido identificar factores genéticos y moleculares que regulan su capacidad infecciosa, lo que ofrece nuevas oportunidades para optimizar su eficacia como bioplaguicida. Además, el hongo ha mostrado una notable capacidad para colonizar plantas de manera endofítica, proporcionando un beneficio dual: control de plagas y promoción del crecimiento vegetal (Curk & Trdan, 2024).

2.1.1 Impacto de la luz UV en *Beauveria bassiana*

La luz solar, especialmente la UV-B (290-330 nm) y la UV-A (330-400 nm), es el factor ambiental más perjudicial que afecta la persistencia en campo de los insecticidas

fúngicos, En el caso de la luz UV-C (280-200 nm), es mucho más perjudicial para los organismos, no traspasa la atmosfera, pero es utilizada como germicida. Se ha descrito en la literatura que los entomopatógenos se inactivan en cuestión de horas o días cuando se exponen a la luz solar (Gardner *et al.*, 1977). En experimentos de laboratorio bajo luz solar simulada, el 99% de todos los conidios de *B. bassiana* se inactivaron con UV-C después de casi 16 min, y con UV-A y UV-B después de aproximadamente 31 min (Krieg *et al.*, 1981).

Sinno *et al.* (2021), mencionan así mismo que la luz solar natural, específicamente, el componente UV-B (290-330 nm) y UV-A (330-400 nm), es uno de los factores más importantes que afectan a la supervivencia de las esporas de hongos en el aire y en las plantas. (Zimmermann, 2007). Se ha demostrado en el laboratorio una rápida inactivación de los conidios de *B. bassiana* por la radiación ultravioleta en cuestión de horas.

2.2 Microalgas: Características, aislamiento y usos en la agricultura

Las microalgas son organismos fotosintéticos unicelulares, que presentan una amplia diversidad en cuanto a su tamaño, forma, composición bioquímica y hábitat, lo que las convierte en recursos valiosos para diversos usos biotecnológicos, incluidos los sectores agrícola y acuícola. Estas microalgas son especialmente interesantes por su capacidad para captar luz solar, transformar dióxido de carbono y liberar oxígeno, así como por la variedad de compuestos bioactivos que producen, como lípidos, proteínas, pigmentos y antioxidantes (Wogene *et al.*, 2023). En términos de características, muchas microalgas son capaces de tolerar condiciones extremas, lo que las hace especialmente útiles en agricultura en regiones áridas o con condiciones difíciles (Basso-Sartori *et al.*, 2023). El aislamiento de microalgas para uso agrícola suele realizarse en ambientes extremos, como zonas desérticas o aguas residuales, donde se seleccionan aquellas especies que presentan alta tolerancia a condiciones adversas, como la radiación UV, altas temperaturas y salinidad. Este proceso implica métodos de cultivo especializados que favorecen la selección de especies con características deseadas para su aplicación biotecnológica.

En la agricultura, las microalgas ofrecen múltiples beneficios. Se han utilizado como biofertilizantes y bioestimulantes debido a su capacidad para mejorar la fertilidad del suelo, promover la fijación de nitrógeno y aumentar el contenido de nutrientes en los cultivos (Basso-Sartori *et al.*, 2023). Las microalgas también actúan como agentes para mejorar la

retención de agua en suelos degradados y contribuyen al control de plagas mediante la producción de compuestos antimicrobianos (Hoong-Wy *et al.*, 2022). El uso de microalgas puede reducir la dependencia de fertilizantes y pesticidas químicos, promoviendo prácticas agrícolas más sostenibles y minimizando el impacto ambiental (Hoong-Wy Lee *et al.*, 2022; Song *et al.*, 2022).

2.2.1 Microalgas de ambientes desérticos: adaptaciones y potencial uso

Las microalgas de ambientes desérticos presentan una serie de adaptaciones notables que les permiten sobrevivir en condiciones extremas, como altas temperaturas, radiación solar intensa, y disponibilidad limitada de agua. han desarrollado mecanismos de tolerancia a la desecación y resistencia a la radiación ultravioleta, almacenan compuestos antioxidantes y metabolitos protectores, lo que las hace particularmente atractivas para aplicaciones agrícolas (Ullman & Grimm, 2021). Estas adaptaciones no solo les permiten sobrevivir, sino que también las convierten en un recurso útil para mejorar la resistencia de otros organismos o compuestos biológicos, como es el caso de *B. bassiana* frente a factores ambientales adversos como la radiación UV.

Las investigaciones recientes destacan su capacidad para adaptarse a ambientes áridos, lo que podría contribuir significativamente a la agricultura en regiones donde los cultivos están expuestos a condiciones extremas. Por ejemplo, en un estudio realizado por Peredo & Cardon (2020), se ha identificado su potencial para integrarse en sistemas de tratamiento de aguas residuales o para la producción de biomasa y biofertilizantes, mejorando tanto la eficiencia agrícola como el impacto ambiental.

2.3. Formulaciones para la protección de agentes biológicos

2.3.1 Adherentes

Los adherentes en formulaciones biológicas son componentes clave que desempeñan un papel fundamental en la eficacia y la estabilidad de los plaguicidas biológicos. Pueden aumentar la persistencia de los baculovirus en las superficies tratadas, lo que significa que los virus permanecen activos durante un período de tiempo más prolongado. Esto es especialmente importante en entornos agrícolas donde las condiciones ambientales pueden

variar (Grzywacz & Moore, 2017). Tienen la capacidad de lograr proteger a los baculovirus de ser lavados por la lluvia, lo que podría reducir su efectividad si no se utilizan adherentes adecuados, de esta manera, también pueden ayudar a que se adhieran a las hojas o partes de la planta que los insectos consumen. Esto facilita que los insectos ingieran los virus junto con la planta y se infecten posteriormente (Castillejos *et al.*, 2002; Gómez *et al.*, 2013); Esta adherencia potencia el modo de acción de los hongos entomopatógeno, ya que los conidios de adhieren mejor al tegumento ceroso de los insectos (Feng *et al.*, 1994).

Existen distintos tipos de adherentes que pueden ser añadidos a un formulado biológico. Primeramente, tenemos a los surfactantes, que son una clase de adherente que reduce la tensión superficial del agua y esto permite que tenga una mejor y mayor distribución sobre la superficie a tratar en el entorno agrícola. Los polímeros son otra clase de adherente que puede formar una película protectora sobre la superficie a tratar, esta protección prolonga su actividad por lo que puede durar más tiempo siendo infectante. Algunas formulaciones de baculovirus utilizan proteínas o péptidos específicos que pueden interactuar con la cutícula de los insectos para mejorar la adherencia. Los aceites vegetales también han sido utilizados en formulaciones de plaguicidas biológicos ya que pueden actuar como adherentes y de esta manera también proporcionar una capa protectora para los baculovirus (Gelaye & Negash, 2023; Mweke *et al.*, 2023).

2.3.2 Fagoestimulantes

Los fagoestimulantes en formulados biológicos diseñados para afectar la preferencia alimentaria de los insectos son menos comunes que los fitoestimulantes y otros aditivos utilizados en formulados de plaguicidas. De acuerdo con Cisneros *et al.* (2002) los fagoestimulantes también pueden ser aquellos que tienen la capacidad de mejorar el aroma o la fragancia, ya que atraen insectos beneficiosos para el control de la plaga o que directamente desalientan a los insectos dañinos. También pueden utilizarse los mejoradores de aroma en formulados para que el insecto prefiera alimentarse de estos y así finalmente sea efectivo al controlarlo (Castillejos *et al.*, 2002).

Han demostrado ser herramientas fundamentales formulaciones de hongos entomopatógenos como *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Estos compuestos actúan como atrayentes químicos que inducen comportamientos alimenticios o de contacto en los insectos,

aumentando la probabilidad de exposición y colonización por parte de los hongos (Hajek, 2018). Algunos fagoestimulantes empleados son metabolitos secundarios de plantas, extractos de insectos y compuestos volátiles naturales o sintéticos, los cuales pueden ser formulados en cebos o suspensiones. No solo mejora la eficiencia de infección, sino que también permite reducir la dosis necesaria y focalizar las áreas tratadas; su uso se alinea con las estrategias de manejo integrado de plagas al disminuir la dependencia de plaguicidas químicos (Saminathan *et al.*, 2025).

Las feromonas también pueden ser utilizadas como atrayentes alimenticios ya que son sustancias químicas que los insectos utilizan para comunicarse entre sí. Los formulados biológicos pueden incluir feromonas que atraen o confunden a los insectos, afectando su comportamiento alimentario (Ruiz-Lozano *et al.*, 2023). Algunos extractos de plantas contienen compuestos que pueden influir en la preferencia alimentaria de los insectos. Por ejemplo, ciertos extractos pueden actuar como repelentes naturales o atraer a los insectos hacia plantas no hospedantes. Se sabe que las semillas de naranja y papaya contienen quinonas que además de funcionar como fagoestimulantes también actúan como atrayente (Paredes-Sánchez *et al.*, 2021; Albuquerque *et al.*, 2022). Muchos de estos compuestos pueden aumentar el costo del formulado final, por lo cual se sugiere el empleo de compuestos de fácil acceso. Ballard *et al.* (2000), disminuyó la dosis empleada de baculovirus utilizando formulaciones con 10 a 15% de melaza, controlando efectivamente a *Cydia pomonella* (L.). Se ha demostrado que la melaza puede mejorar la efectividad de baculovirus contra *C. pomonella* concentraciones mucho más bajas, incluso de 0.5 a 0.25% (Moore *et al.*, 2015). También se ha utilizado glutamato monosódico como potenciador de sabores aumentando a fago estimulación de formulaciones entomopatógenas concentraciones mínimas de 25 ppm, aumentando hasta un 30 % el consumo de las formulaciones (Pszczolkowski & Brown, 2002; Mahfouz *et al.*, 2018).

2.3.3 Antioxidantes

Los antioxidantes en formulados biológicos de plaguicidas son componentes que se utilizan para proteger y estabilizar los ingredientes activos presentes en estos productos. Al mantener la estabilidad de los ingredientes activos, los antioxidantes permiten que los plaguicidas biológicos mantengan su eficacia cuando se aplican en el campo. Esto es esencial

para proteger los cultivos de las plagas y enfermedades de manera efectiva (Rangel *et al.*, 2015).

Estas sustancias, como el ácido ascórbico, el glutatión, los polifenoles, ácido fólico, riboflavina, piridoxina, eucalipto, nanoóxido de zinc y aluminio, así como diferentes antioxidantes vegetales de origen natural (El-Helaly, 2020; Sayed *et al.*, 2020). También el uso de vitaminas como el ácido fólico, piridoxina y riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina, ácido fólico y riboflavina han demostrado poder proteger a un poliedrovirus de la actividad antioxidante del ambiente (Hay *et al.*, 2020; Bustillos-Rodriguez *et al.*, 2023).

Aumentan la viabilidad y estabilidad de los hongos durante el almacenamiento y después de la aplicación en el campo al mitigar el estrés oxidativo, los antioxidantes contribuyen a mantener la virulencia y la eficacia del hongo en el control de plagas. Facilitan la integración de estos agentes a las condiciones ambientales de los agroecosistemas, permitiendo una mayor adaptabilidad a climas cálidos o zonas con alta incidencia de radiación solar (Braga *et al.*, 2019).

2.3.4. Sustancias fotoprotectoras

Como se ha mencionado, la capacidad de los hongos entomopatógenos para mantenerse viables y efectivos en el ambiente depende de varios factores, la exposición a la radiación solar es uno de los más críticos. La radiación ultravioleta (UV) puede dañar significativamente los conidios de hongos como *B. bassiana* y *M. anisopliae*, reduciendo su viabilidad y virulencia en cuestión de horas. Este daño incluye alteraciones en la membrana celular, desnaturalización de proteínas y daños en el ADN, lo que disminuye la capacidad del hongo para infectar a los insectos hospedadores (Braga *et al.*, 2015).

Entre los protectores solares más utilizados se encuentran los absorbentes de radiación UV, que incluyen compuestos como el carbón activado, el dióxido de titanio y los lignosulfonatos. Estas sustancias tienen la capacidad de absorber la radiación UV en un amplio espectro, lo que protege a los conidios de los daños provocados por la exposición solar directa (Ghajar *et al.*, 2006). Por ejemplo, el dióxido de titanio no solo actúa como un excelente filtro UV, sino que también puede aumentar la adherencia de los conidios a las superficies, mejorando su eficacia biológica (Meirelles *et al.*, 2023).

Los abrillantadores ópticos, derivados del estilbeno, son otra herramienta

prometedora. Estos compuestos no absorben la radiación UV, sino que la reemiten como luz visible, creando un efecto protector adicional. Su uso en formulaciones ha demostrado prolongar la viabilidad de los hongos y aumentar su efectividad en condiciones de alta radiación solar (Goulson *et al.*, 2000). Asimismo, los colorantes como el rojo Congo y la tinta china han mostrado cierto grado de protección al absorber la radiación UV, aunque se requieren más estudios para confirmar su eficacia consistente en formulaciones de hongos (Cakmak *et al.*, 2021).

Adicionalmente, la microencapsulación de conidios con polímeros naturales y proteínas ha surgido como una estrategia innovadora para protegerlos contra la radiación UV y otros factores ambientales. Estos sistemas encapsulan los conidios en matrices protectoras que mejoran su estabilidad y liberación controlada en el campo. Por ejemplo, la goma de ENTOSTAT ha demostrado incrementar la adhesión y persistencia de los hongos en superficies vegetales, mejorando la eficacia del control biológico (Athanassiou *et al.*, 2017).

2.3.5 Uso de microalgas como agentes protectores y su aplicación en biocontrol

El uso de microalgas como ingrediente en protectores solares ha sido un campo de investigación y desarrollo que últimamente va ganando interés debido a las propiedades que poseen algunas microalgas para proteger la piel de la radiación ultravioleta dañina. Esto lo logran de distintas maneras, por ejemplo, algunas microalgas contienen pigmentos naturales que les permiten protegerse de la radiación solar dañina. Estos pigmentos, como las xantofilas y las astaxantinas, han demostrado tener propiedades antioxidantes y fotoprotectoras (Araújo *et al.*, 2022).

De acuerdo con Santisebastian-Romero *et al.* (2022), se ha demostrado que las microalgas también producen melinas, que son sustancias que pueden ayudar a dispersar la radiación UV y proteger a células de los daños causados por esta. Los polisacáridos también han demostrado ser una de las sustancias fotoprotectoras que sintetizan las microalgas que le permiten a este organismo sobrevivir y prosperar en ambientes expuestos al sol por lo que ha generado interés en su investigación para usarlo en productos de cuidado de la piel y protectores solares en humanos (Sangeetha & Thangadurai, 2022).

También se han estudiado a los aminoácidos similares a micosporina (MAAs), que son otro de los compuestos solubles en agua que algunas microalgas sintetizan en respuesta

a la exposición a la radiación UV. Estos compuestos se ha probado que actúan absorbiendo la radiación UV y transformándola en calor evitando así el daño celular (Araújo *et al.*, 2022).

Algunas de las microalgas que han demostrado tener compuestos efectivos contra la radiación solar UV-A son *Chlorella* sp (Huang *et al.*, 2018), *Isochrysis zhangjiangensis* (Villaró *et al.*, 2021), *Nitzschia closterium* (Grandi *et al.*, 2016), *Porphyra umbilicalis* (Álvarez-Gómez *et al.*, 2016), *Grateloupia* (Saewan y Jimtaisong, 2015). Contra la radiación solar UV-B se han investigado a *Alexandrium catenella* (Carreto *et al.*, 2001), *Characium terrestre* (Xiong *et al.*, 1997), *Rhodomonas salina* (Ljubic *et al.*, 2021a), *Nannochloropsis oceánica*, (Ljubic *et al.*, 2021b), y contra radiación solar UV-C se ha estudiado a *Chlamydomonas reinhardtii* (Colina *et al.*, 2020) y *Nannochloropsis* sp (Sharma & Schenk, 2015). Otros compuestos que se han investigados ampliamente para el espectro de UV-vis son los carotenoides e hidrocarbones (Ghaeni *et al.*, 2014), dihidroxi-ésteres diacíclicos de carotenoides (Ma *et al.*, 2022), y la β -criptoxantina monohidroxicarotenoides (Careri *et al.*, 2001).

3. JUSTIFICACIÓN

El uso de pesticidas químicos sigue siendo el método más común para el control de plagas agrícolas, sin embargo, sus efectos negativos en el medio ambiente y en la salud humana han llevado a la búsqueda de alternativas más sostenibles. *B. bassiana*, un entomopatógeno natural, ha demostrado ser una herramienta efectiva en el control biológico de una amplia gama de insectos plaga. Sin embargo, su aplicación enfrenta desafíos importantes debido a la radiación UV y las altas temperaturas a las que se encuentran expuestos los cultivos, lo que afecta la viabilidad de sus conidios y, por ende, su eficacia en el control de plagas. Las microalgas aisladas de ambientes desérticos ofrecen una solución potencial a este problema. Estas microalgas presentan adaptaciones que les permiten sobrevivir a condiciones ambientales extremas, incluidas altas dosis de radiación UV y desecación. Incorporarlas en las formulaciones de *B. bassiana* como protectores solares naturales podría mejorar la resistencia de los conidios frente a la radiación solar, lo que incrementaría la persistencia y efectividad del hongo en el campo sin necesidad de recurrir a concentraciones excesivas. Este enfoque no solo ayudaría a reducir la dependencia de los pesticidas químicos, sino que también optimizaría el uso de agentes biológicos en sistemas de manejo integrado de plagas, promoviendo un control más ecológico y eficiente.

4. HIPÓTESIS

La incorporación de biomasa de microalgas aisladas de ambientes desérticos en una formulación de conidios de *Beauveria bassiana* incrementa la viabilidad y efectividad del hongo entomopatógeno bajo condiciones de alta radiación UV, en comparación con las formulaciones tradicionales, proporcionando un control más eficaz y sostenible de plagas en cultivos agrícolas.

5. OBJETIVOS DEL TRABAJO

5.1 Objetivo general

Evaluar el potencial de la biomasa de microalgas aisladas de ambientes desérticos, como agente protector solar en la formulación de conidios de *Beauveria bassiana*

5.2 Objetivos específicos

- Seleccionar microalgas aisladas de ambientes desérticos con mayor tolerancia a la radiación UV
- Determinar la eficacia de la biomasa de las microalgas seleccionadas como protector UV para los conidios de *B. bassiana*, con base en su viabilidad y actividad bajo condiciones de laboratorio
- Desarrollar y optimizar una formulación en emulsión utilizando biomasa de microalgas y conidios de *B. bassiana*, garantizando la compatibilidad y estabilidad de los componentes
- Evaluar el desempeño de la formulación en condiciones ambientales reales, determinando la protección contra la radiación solar.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Los reactivos que se describan a continuación, los que no se especifique la casa comercial, se adquirieron en *Sigma-Aldrich* Química, S,A. de C.V., Toluca de Lerdo, México.

6.1 Material biológico

6.1.1 Microalgas empleadas

Las microalgas empleadas fueron las cepas RAD3, RAD5 (Caracterizadas molecularmente como *Chlorella* sp. y *Chlorella variabilis*, respectivamente) y RAD1 (Caracterizadas morfológicamente como *Chlamidomonas* sp.); fueron aisladas del lago seco de Mayrán en Coahuila (25°53'45.30"N y 102°21'12.33"O).

6.1.2 Producción de biomasa

Para la obtención de biomasa de las microalgas para utilizarse las diferentes pruebas se utilizó el medio LC, propuesto por López-Chuken *et al.* (2010). Los cultivos se mantuvieron en incubación a temperatura ambiente, con un fotoperiodo de 12:12 h luz/oscuridad y una intensidad luz de 100 μmol fotones $\text{m}^{-2}/\text{s}^{-1}$. La biomasa se obtuvo mediante centrifugación a 10,000 rpm durante 10 min a 4 °C, y se desechó el sobrenadante. Posterior a esto, la biomasa se procesó según su uso.

6.2 Selección de las cepas de microalgas con mayor tolerancia a la radiación UV

6.2.1 Exposición a la luz UV

Para seleccionar la cepa de microalga que presentara mayor tolerancia a la luz UV, Los cultivos se expusieron por triplicado a la luz UV-C en la campana de flujo laminar Purifier Class II Biosafety Marca LABCONCO (Kansas City, Missouri, Estados Unidos). Para lo cual se colocaron 30 mL de cultivo en placas de Petri de 9 cm de diámetro, a una concentración de 1×10^8 cel/mL, a una distancia de 65 cm de la lámpara de UV-C por triplicado; se tomaron muestras de 500 μL cada 10 min durante una hora. Como control de

esterilidad, se colocó un cultivo de *Escherichia coli*.

6.2.2 Viabilidad de conidios por MTT

En una placa de 96 pocillos se colocaron 100 μ L de cada muestra de microalga tomada a los diferentes tiempos, a cada pocillo se le añadieron 10 μ L de solución de MTT a una concentración de 5 mg/mL en buffer fosfato salino (PBS). Posterior a esto se dejó en oscuridad por un periodo de 3 horas, durante este tiempo, el MTT es reducido por enzimas metabólicamente activas, a un precipitado de formazán insoluble. Una vez finalizado el tiempo de incubación, se añadieron 85 μ L de DMSO (dimetilsulfóxido) a cada pocillo para disolver los cristales de formazán, la placa se agitó suavemente durante 15 min para asegurar la solubilización completa. Una vez que se terminó el tiempo de agitación de la placa se leyó en un espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan Go (Vantaa, Finlandia), a una longitud de onda de 540 nm.

6.3 Efectividad como protector contra la luz UV de conidios de *B. bassiana*, por la biomasa de la cepa seleccionada.

6.3.1 Preparación de tratamientos de conidios con biomasa de microalgas

Para poder determinar si la biomasa de microalgas era efectiva como protector solar, se prepararon tres tratamientos para ser expuestos a la luz UV-C, los cuales consistían en soluciones de 1×10^8 conidios/mL de *B. bassiana* : 1) control negativo, sin ningún protector solar; 2) control positivo, conidios con 1% de Blankophor (Fluorescent Brightener 28 SIGMA-ALDRICH) como protector solar; 3) conidios con 1% de biomasa de la cepa RAD3 (seleccionada a partir de los resultados del apartado 6.2); 4) conidios con 1% de biomasa de la cepa RAD3 homogenizada y sonicada durante 3 min.

La biomasa de la microalga RAD3 se obtuvo de un cultivo de 1×10^8 células/mL, centrifugadas a 10,000 rpm a 4 °C durante 10 min, en una centrifuga Thermo Scientific Sorvall ST16R (Osterode am Harz, Alemania).

Esta biomasa se esterilizó por autoclave y se homogenizó por sonicación. Se desechó el sobrenadante y se utilizó el precipitado como biomasa.

6.3.2 Exposición de conidios a la luz UV-C

Para determinar la eficacia de la cepa RAD3 como protector de conidios contra la luz UV, se utilizó nuevamente la lámpara de luz UV-C integrada de una campana de flujo laminar. Se utilizaron 30 mL de cada uno de los 3 tratamientos por 3 repeticiones placas de Petri; y se expusieron a la luz UV durante una hora y media, se tomaron 3 muestras de 500 μ L por cada triplicado, a los 0, 30, 60 y 90 minutos.

6.3.3 Viabilidad de conidios expuestas a la luz UV-C

El porcentaje de viabilidad de los conidios se evaluó por la técnica de microcultivo; Se preparó un portaobjetos dentro de una caja de Petri, encima del portaobjetos se colocó un cuadro de $\pm 1 \text{ cm}^2$ de agar PDA, este cuadro se inoculó con 20 μ L de cada muestra y se cubrió con un portaobjetos. Para mantener la humedad, se añadió una pequeña bola de algodón humedecido a un lado del portaobjetos y se cerró la caja de Petri. Se incubaron a temperatura ambiente por 24 h y posterior a esto se observó al microscopio con un objetivo de 40x. Se consideraron conidios viables aquellos que mostraran un tubo germinativo y se registró en porcentaje a partir del total contado.

6.4 Actividad antioxidante de la biomasa de la microalga RAD3

Se evaluó la actividad antioxidante de la biomasa empleada en la formulación mediante la técnica 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) según el método de Gómez *et al.*, (2013); utilizando el reactivo DPPH a 0.1 mM disuelto en metanol al 96% (debe de estabilizarse durante 30 min e incubados en oscuridad a 4 °C).

Se preparó una curva estándar utilizando ácido ascórbico (Vitamina C) a concentraciones de 100, 200, 400, 600, 800 y 1,000 ppm. Los ensayos se realizaron en placas de 96 pocillos. En cada pocillo, se pipetearon 100 μ L de la solución de DPPH previamente preparada. Posteriormente, se añadieron 100 μ L de la biomasa de la microalga, así como de las concentraciones para la curva estándar de ácido ascórbico. La placa se cubrió con papel aluminio para evitar la exposición a la luz. Posteriormente, se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min en agitación suave. Tras la incubación, se midió la absorbancia a 517 nm utilizando el espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan Go.

6.5 Formulación en emulsión utilizando biomasa de microalgas y conidios de *B. bassiana*

6.5.1 Preparación de formulado en emulsión

Se preparó una emulsión aceite-agua (O/W) según Del Rincon-Castro et al. (2021). La fase oleosa, compuesta por aceite vegetal (10%) y Tween 80 (10%), se mezcló en un recipiente limpio y seco. Paralelamente, se preparó la fase acuosa con agua destilada (30-50%), microalga RAD3 (1%), glicerina (1%) e Inex-A (1%) como estabilizante. La fase oleosa se incorporó lentamente en la acuosa bajo agitación constante a 500 rpm, logrando una emulsión homogénea. Finalmente, se añadieron conidios de *B. bassiana* (1×10^8) como ingrediente activo, asegurando su dispersión uniforme. Los ingredientes y sus funciones se detallan en la tabla 1.

El producto se almacenó en un recipiente hermético a temperatura ambiente.

Tabla 1. Ingredientes del preparado en emulsión con base en una formulación de aceite-agua su función y porcentaje.

Ingrediente	Función	Porcentaje
Conidios de <i>Beauveria bassiana</i>	Ingrediente activo	Concentración final de 1×10^8 conidios/mL
Aceite vegetal	Aceite	10%
Agua	Vehículo	30-50%
Biomasa de microalga RAD3	Agente protector solar	1%
Glicerina	Emulsionante	1%
Inex-A	Estabilizante	1%

Se realizó una prueba de compatibilidad y estabilidad de componentes para evaluar la capacidad de solubilización de la biomasa de la microalga en los distintos componentes de la formulación. La prueba se realizó utilizando una formulación base compuesta por 90%

agua, 10% aceite, 1% biomasa de la microalga RAD3 y 1% conidios de *Beauveria bassiana*.

Se prepararon tres formulaciones en tubos cónicos de 50 mL: Formulación base + glicerina al 1%; Formulación base + INEX-A al 1%; Formulación base + glicerina al 1% + INEX-A al 1%. Las formulaciones se homogeneizaron y se registró el tiempo necesario para que las fases se separaran. Además, se realizaron microcultivos por triplicado de cada formulación, y tras 24 horas se llevó a cabo un conteo de conidios viables con el objetivo de determinar posibles incompatibilidades entre los componentes y los conidios de *B. bassiana*.

6.5.2 Tolerancia a la luz solar de la formulación con biomasa de microalgas.

Se evaluó la viabilidad de conidios de *B. bassiana* formulados con la cepa RAD3 expuestos a la luz solar directa. Como control positivo se utilizó la misma formulación utilizando Blankophor al 1% como protector óptico, como control negativo se usaron conidios de *B. bassiana* sin formular, cada tratamiento se realizó por triplicado. Se emplearon las condiciones del apartado 6.3.2, se colocaron 30 mL de cada tratamiento en placas de Petri de vidrio y se expusieron al sol directamente sin tapa, durante el intervalo de mayor radiación solar (entre las 11:30 am y las 2:00 pm). Este experimento se realizó en 3 días diferentes, el 29, 30 y 31 de octubre del 2024, con una intensidad de 19,458, 18,586 y 19,569 LUX respectivamente y un índice UV de 7 (alto) para los 3 días. Las temperaturas para los tres días fueron de 30, 31, y 29 °C respectivamente, siendo días estables en cuanto a temperatura ambiental y días totalmente despejados. Las muestras de 500 µL se recolectaron de forma similar, por triplicado, a los 30, 60 y 90 min de exposición. Posteriormente, se realizaron microcultivos para estimar el porcentaje de viabilidad de los conidios.

6.6 Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico de los datos para los ensayos de viabilidad por MTT, se realizaron por medio del software SPSS, analizando una diferencia de medias por medio de ANOVA bilateral utilizando el método de Dunnett con un intervalo de confianza de 0.05.

Para el análisis estadístico de los datos para los ensayos de viabilidad por microcultivo se realizaron por medio del software GraphPad Prism, analizando una diferencia de medias por medio de ANOVA de dos vías utilizando el método Tukey con intervalo de confianza de 0.05.

7. RESULTADOS

7.1 Selección de las cepas de microalgas con mayor tolerancia a la radiación UV

De las tres cepas evaluadas, la cepa RAD1 conservó una viabilidad del 95.7% y 91.55% a los 10 y 20 min respectivamente, sin diferencias significativas con respecto al control $F_{6,14}=19.715$, $p > 0.05$; a partir del minuto 30 la viabilidad bajó significativamente desde un 84.82% a un 72.7% del minuto 30 al minuto 60, respectivamente, como se puede observar en la figura 1A. La cepa RAD 5 tuvo una mayor pérdida en la viabilidad, bajando al 70% a los 10 min hasta un 56% a los 60 min (Figura 1B). Contrario a las demás cepas, la viabilidad de la cepa RAD3 no presentó diferencias significativas con respecto al control en ninguno de los tiempos evaluados, por lo cual se seleccionó para las demás pruebas (Figura 1C).

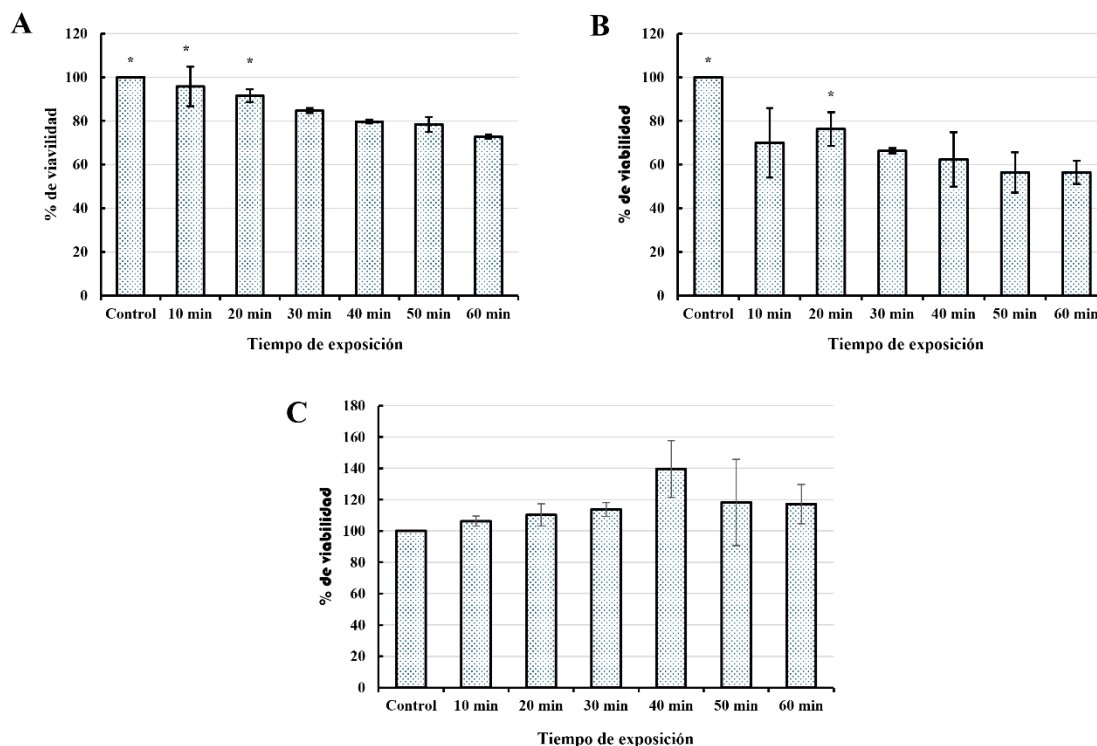


Figura 1. Viabilidad de las cepas de microalgas expuestas a la luz UVC: A) cepa RAD1; B) cepa RAD5; C) cepa RAD3. Los * representan que hay diferencias estadísticas con respecto al control con una $P= 0.0001$) y las barras de error representan la desviación estándar.

7.2 Efectividad como protector contra la luz UV de conidios de *B. bassiana*, por la biomasa de la cepa seleccionada.

Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas en la efectividad de los tratamientos para proteger los conidios de *B. bassiana* expuestos a luz UV en distintos tiempos. El efecto principal del tiempo fue altamente significativo ($F_{2,181, 17.44} = 291.2$, $P < 0.0001$), indicando que la duración de la exposición a la luz UV afecta significativamente la viabilidad de los conidios. Asimismo, el efecto del tratamiento fue significativo ($F_{3, 8} = 86.1$, $P < 0.0001$), en comparación con los diferentes tratamientos (Blankophor, microalga no homogenizada y homogenizada) lo cual sugiere impactan de manera distinta en la protección de los conidios. Además, se observó una interacción significativa entre el tiempo y el tratamiento ($F_{9, 24} = 14.95$, $P < 0.0001$).

A los 30 min, el tratamiento con Blankophor mostró una protección altamente significativa frente al control sin protección, mientras que los tratamientos con RAD3 no homogenizada y homogenizada no presentaron diferencias significativas en comparación con el control ($P = 0.9948$ y $P = 0.2809$, respectivamente). Además, en este tiempo inicial, Blankophor fue significativamente más efectivo que ambos tratamientos con RAD3 ($P = 0.0196$). No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de microalga no homogenizada y homogenizada ($P = 0.5305$).

A los 60 min, el tratamiento con Blankophor mantuvo una protección significativa frente al control, al igual que los tratamientos con microalga no homogenizada ($P = 0.0435$) y homogenizada ($P = 0.0003$). En este punto, el tratamiento con Blankophor siguió siendo más efectivo en ambos tratamientos con RAD3, sin homogenizar y homogenizada ($P = 0.0057$ y $P = 0.0440$ respectivamente). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de microalga en este tiempo ($P = 0.0660$).

Finalmente, a los 90 min, los tratamientos con microalga mostraron una protección significativa en comparación con el control, RAD3 no homogenizada ($P = 0.0058$) y RAD3 homogenizada ($P = 0.0015$). El tratamiento con Blankophor ya no presentó diferencias significativas frente al control ($P = 0.1523$). En este tiempo final, no se observaron diferencias significativas entre el tratamiento con Blankophor y el tratamiento sin homogenizar ($P = 0.9137$) ni entre Blankophor y el tratamiento con RAD homogenizada (P

= 0.7302),

En el tiempo final de 90 min, ambos tratamientos con RAD3 demostraron ser efectivos, el tratamiento con RAD3 homogenizada mostró una diferencia significativa frente al tratamiento sin RAD3 homogenizada ($P = 0.0089$), alcanzando una protección comparable al tratamiento con Blankophor, ya que no se observaron diferencias significativas entre ellos.

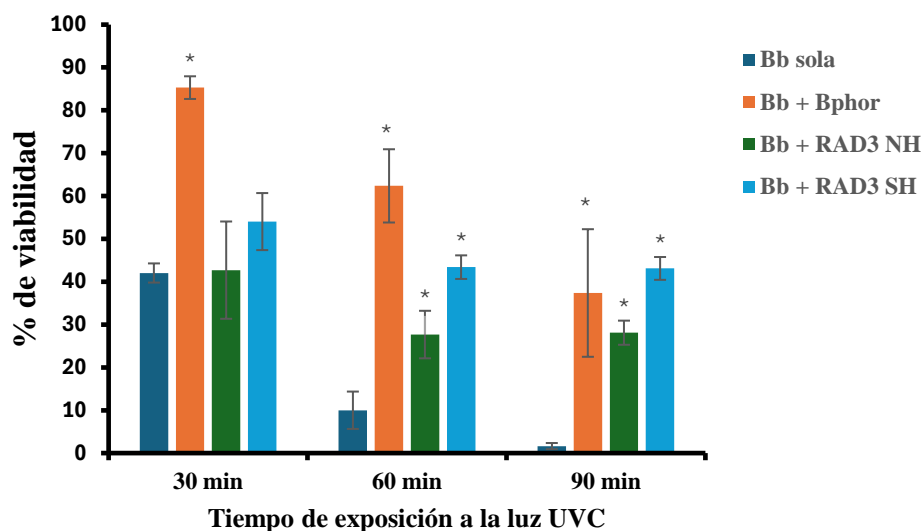


Figura 2. Viabilidad de tratamientos expuestos a la luz UV-C en campana de flujo laminar. Los * representan que hay diferencias estadísticas con respecto al control con una $P= 0.0001$) y las barras de error representan la desviación estándar.

7.3 Actividad antioxidante de la biomasa de la microalga RAD3

Los resultados obtenidos para las muestras control con ácido ascórbico mostraron un porcentaje de inhibición del 1.67% para una muestra de 10 μg , 5.91% para 50 μg y 58.83% para 100 μg , como puede observarse en la tabla 2, así como en la figura 2.

Para las muestras de la microalga RAD3, ninguna concentración mostró tener actividad antioxidante, manteniéndose en 0% el porcentaje de inhibición desde la concentración de 10 μg hasta 100 μg .

Tabla 2. Resultados de la captación del radical DPPH para muestras a diferentes

concentraciones de ácido ascórbico y RAD3

Muestra (μg)	Ácido ascórbico		RAD3	
	\bar{x} Lectura	% Inhibición	\bar{x} Lectura	% Inhibición
0 (Blanco)	4	0	4	0
10	3.993	1.67	4	0
20	3.897	2.75	4	0
50	3.763	5.91	4	0
80	2.666	33.5	4	0
100	1.646	58.83	4	0

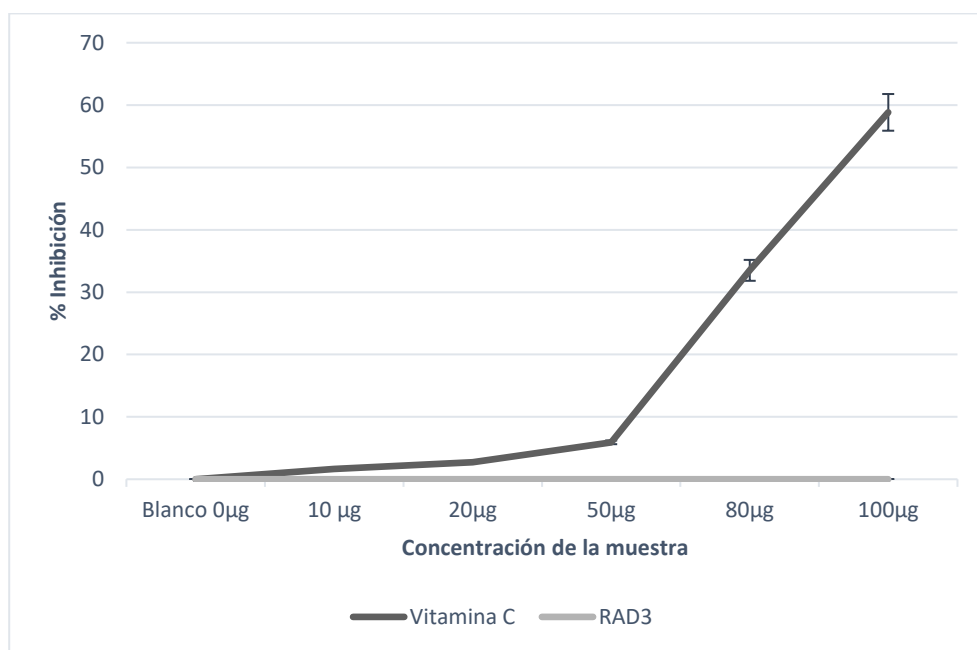


Figura 3. Porcentaje de inhibición del radical DPPH para muestras a diferentes concentraciones de ácido ascórbico y de la microalga RAD3.

7.4. Protección a la luz solar de la formulación con biomasa de microalgas.

Los resultados revelaron efectos significativos del tratamiento, $F_{(2,6)} = 965.9$, $P < 0.0001$, del tiempo $F_{3,536,21.22} = 125.4$, $P < 0.0001$ y de la interacción entre ambos factores $F_{(14,42)} = 51.24$, $P < 0.0001$, indicando que tanto los tratamientos como la duración de la exposición a la luz solar influyen significativamente en la viabilidad de los conidios de *B.*

bassiana.

En el tiempo 0 no se detectaron diferencias significativas entre los tres tratamientos, lo cual era esperado debido a que este tiempo 0 se tomó como el control inicial. A partir de los 40 minutos, tanto el tratamiento de con Blankophor, como el tratamiento con RAD3 mostraron una protección significativa comparada con *B. bassiana* sin protección ($P = 0.0002$ y $P = 0.0004$, respectivamente), y aunque no hubo diferencias significativas entre ambos tratamientos ($P = 0.1323$), el tratamiento con RAD3 comenzó a mostrar resultados prometedores frente al tratamiento sin protección, pero inferior al tratamiento con Blankophor.

A los 60 min, el tratamiento con RAD3 mostró diferencias significativas tanto frente al tratamiento sin protección ($P = 0.0176$) como frente a la protección con Blankophor ($P = 0.0027$), sugiriendo un desempeño inferior a este último. Este patrón continuó a los 80 y 100 minutos, donde ambos tratamientos ofrecieron una protección significativa en comparación al tratamiento sin protección ($P < 0.001$), y RAD3 mantuvo un desempeño estadísticamente diferente frente a la protección con Blankophor ($P = 0.0222$ y $P = 0.0306$, respectivamente). A los 120 y 140 min, ambos tratamientos siguieron ofreciendo una protección significativa frente a *B. bassiana* sin protección ($P < 0.01$). Se destaca que no se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento con Blankophor y el tratamiento con RAD3, en estos tiempos finales ($P = 0.2112$ y $P = 0.1016$, respectivamente).

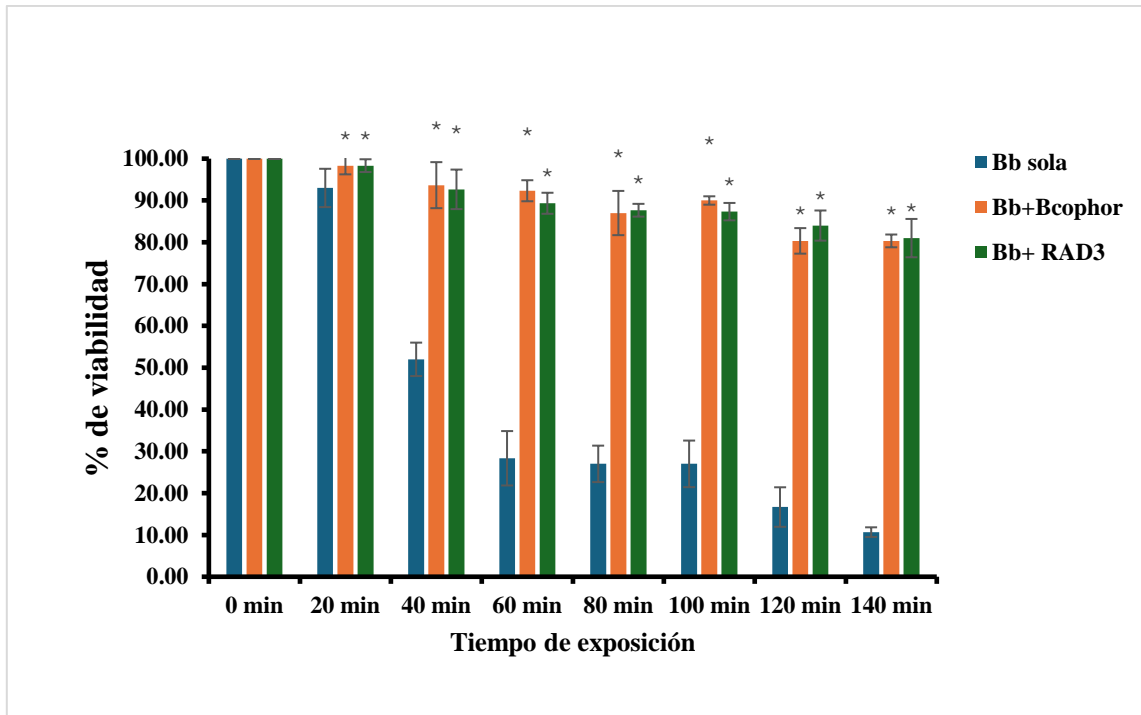


Figura 4. Viabilidad de tres tratamientos expuestos a la luz solar. Los * representan que hay diferencias estadísticas con respecto al control con una P de 0.0001) y las barras de error representan la desviación estándar.

8. DISCUSIÓN

Las microalgas han desarrollado mecanismos de resistencia y autorregulación frente a las radiaciones UV (UV-A, UV-B y UV-C), lo que les permite sobrevivir en condiciones extremas de estrés ambiental. La alta capacidad de estas microalgas para resistir el daño inducido por dicha radiación ultravioleta se atribuye principalmente a sus mecanismos eficientes de reparación celular y síntesis de compuestos fotoprotectores. Esta información se encuentra respaldada por Santisebastián-Romero *et al.* (2022) quienes mencionaron que existen tres mecanismos distintos por los cuales las microalgas resisten la luz UV: la activación de mecanismos de foto-reparación, sus sistemas antioxidantes y la biosíntesis de fotoprotectores como los aminoácidos tipo micosporina (MAAs), u otros pigmentos como los carotenoides o las poliaminas. En conjunto, estos tres mecanismos juegan un papel crucial al absorber y disipar la radiación UV, minimizando el daño al ADN y otros componentes celulares. De acuerdo con Rastogi *et al.* (2020), estos procesos adaptativos permiten que las microalgas mitiguen los efectos nocivos de la radiación UV, destacando su importancia en ecosistemas extremos y su potencial en aplicaciones biotecnológicas como la protección solar natural.

En este estudio, los resultados mostraron específicamente que RAD3 (*Chlorella* spp.) resistió a la luz UV-C de la campana de flujo por un tiempo de hasta 60 min, en contraste con RAD1 y RAD5 de *Chlamydomonas* spp. y *Chlorella variabilis*, respectivamente, las cuales no tuvieron resistencia a la luz UV-C de la campana de flujo por más de 30 min. Martínez-Ruiz *et al.* (2022) describen una lista extensa de microalgas resistentes a la luz UV, que incluye a *Chlorella protothecoides*, con resistencia a la luz UV-C, y a *Chlorella vulgaris*, con resistencia a la luz UV-B. Ambas especies fueron expuestas a distintas intensidades de luz UV-C y UV-B, demostrando ser resistentes a estos tipos de luz UV. Dichos autores atribuyen esta resistencia a la producción de un pigmento llamado luteína para *C. protothecoides* y de la producción de dos tipos de MAA's, los cuales son esporopolenina y escitonemina. León-Díaz (2020) menciona que no solo existe la presencia de esporopolenina y escitonemina en microalgas, sino también en cianobacterias. La autora sugiere una evolución de mecanismos fotoprotectores entre diferentes organismos fotosintéticos.

Esto nos demuestra la importancia adaptativa y sobre la secreción de este compuesto

bajo condiciones de ambientes extremos, bajo a los que algunas cianobacterias también se encuentran expuestas.

Calderón-García *et al.* (2023) realizaron un estudio de resistencia de esporas de *Selaginella novoleonensis* a las condiciones ambientales del planeta Marte, encontrando también en sus resultados, que dicha planta extremófila también presenta la síntesis de MAA's, entre ellos la esporopolenina, lo cual la protege de las condiciones de radiación extremas en la ingeniería espacial.

Chlamydomonas spp. no suele ser un género de microalgas que resista a la luz UV, de acuerdo con Tokutsu *et al.* (2021), este género de microalgas acumula proteínas LHCSR1 y LHCR3 las cuales funcionan como mecanismos de defensa contra las condiciones de radiación UV-A y UV-B, disipando la energía excesiva y protegiendo contra daños fotooxidativos, sin embargo, los autores mencionan que la eficiencia de estos mecanismos puede ser menor en comparación con microalgas o cianobacterias más adaptadas a ambientes extremos, mencionan que puede ser un género que suele encontrarse en cuerpos de agua dulce o ambientes templados donde la exposición a la radiación UV es menos severa. Esto puede explicar porque tiene una capacidad limitada para resistir y poder mantenerse viable bajo el estrés por las distintas radiaciones UV.

Ueno *et al.* (2018) evaluaron la capacidad de captación de luz de una amplia cantidad de microalgas; sugieren que, si bien algunas especies de *Chlorella*, como *C. ohadii* y ciertas cepas domesticadas, exhiben una resistencia mejorada a la fotoinhibición y al estrés fotooxidativo debido a los altos niveles de carotenoides, otras especies, como *Chlorella variabilis*, pueden no tener el mismo nivel de resistencia a los rayos UV, posiblemente debido a diferencias genéticas y metabólicas. Al profundizar en *C. ohadii*, se encuentra que puede estar aislada de ambientes desérticos y exhibir una excelente resistencia a condiciones extremas, lo cual se atribuye a su adaptación a ambientes de radiación intensa. Treves *et al.* (2013) mencionan que *C. ohadii*, una especie relativamente nueva de *Chlorella* que sobrevive en las costras microbianas en la arena del desierto, exhibe una resistencia sumamente notable a la intensidad excesiva de la luz.

La actividad antioxidante de *Chlorella* spp., mediante ensayo de DPPH, obtuvo un 0% de inhibición del radical DPPH para todas sus concentraciones, lo que indicó una ausencia de actividad antioxidante. Estos hallazgos contrastan con lo reportado por otros

autores, quienes mencionan una alta actividad antioxidante para este género de microalgas. Dimova *et al.* (2021) señalan que *Ulva rigida*, una macroalga, y *Chlorella* spp., una microalga, presentan actividad antioxidante al evaluar sus extractos metanólicos, con resultados de 32% y 47%, respectivamente, de inhibición del radical DPPH. Tamanna *et al.* (2023) encontraron resultados similares al probar siete solventes de diferentes polaridades, destacando el extracto metanólico como el más eficiente, con una actividad antioxidante del 44.98%. En dichos estudios, donde se reporta alta actividad antioxidante para esta microalga, se emplearon extractos metanólicos o etanólicos, a diferencia del presente trabajo, que probó a *Chlorella* spp. en su forma íntegra y sin extracción previa con solventes.

La ausencia de extracción pudo limitar la disponibilidad de los compuestos antioxidantes, ya que los solventes permiten liberar y concentrar metabolitos secundarios, como los carotenoides y polifenoles, conocidos por su capacidad antioxidante. Esto se respalda con lo mencionado por Domínguez-Gámez y col (2024), quienes realizaron actividad antitumor, antioxidante y hemolítica de extractos de *Chlorella sorokiniana*, utilizando concentraciones en un rango de 6.25 a 50 microgramos/mL. En este artículo, se menciona que la extracción mejora la detección de antioxidantes específicamente en microalgas, Olasehinde *et al.* (2019) encontraron en su estudio que los extractos de etanol y diclorometano fueron los mejores para mostrar actividad de eliminación de los radicales de DPPH para *Chlorella sorokiniana* y *Chlorella minutissima* en comparación con la biomasa cruda de estas microalgas, utilizaron concentraciones de 25, 50, 75, y 100 microgramos/mL. Gammal *et al.* (2024) resaltaron la importancia de realizar extractos utilizando solventes, ellos observaron una alta actividad antioxidante en *Nannochloropsis* spp. y *Chlorella* spp. en extractos metanólicos y etanólicos, ya que al probar extractos crudos no encontraron ninguna actividad antioxidante. Estos estudios nos demuestran el papel clave que juega el solvente en el proceso de extracción para poder encontrar de manera adecuada una actividad antioxidante. Asimismo, se destaca que las concentraciones utilizadas por los autores están dentro del rango utilizado en el presente estudio, por lo que esto sugiere que el rango de concentraciones fue el apropiado para demostrar los efectos antioxidantes.

Los conidios de *B. bassiana* sin protectores perdieron la viabilidad rápidamente ante condiciones de luz UV-C de la campana de flujo laminar, tan solo después de los primeros 30 minutos de exposición perdiendo hasta un 60% de su viabilidad. Estos hallazgos se

encuentran ampliamente investigados en la literatura, Fernández-Bravo *et al.* (2023) realizaron un estudio sobre la pérdida de viabilidad y la reducción de la capacidad infectiva de *B. bassiana* al ser expuesta a condiciones de luz UV, reportando que la radiación UV-B reduce la eficacia y provoca una pérdida significativa de la viabilidad de los conidios de *B. bassiana*.

Otros artículos reportan resultados muy similares al analizar el efecto de la radiación UV en *B. bassiana*, mencionando que la radiación UV-B reduce significativamente la viabilidad de los conidios de las cepas de hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *Cordyceps fumosorosea*, (Moldovan *et al.*, 2022; Rossouw *et al.*, 2023). Estos artículos respaldan la necesidad de utilizar fotoprotectores con el fin de que *B. bassiana* siga siendo un entomopatógeno eficiente a nivel de campo, en un estudio realizado por Yu *et al.* (2022) destacan la protección de los conidios de *B. bassiana* con fotoprotectores es crucial debido a su vulnerabilidad a la radiación ultravioleta solar, lo cual mencionan que limita su eficacia como insecticidas fúngicos en la agricultura, mencionando al Blankophor como el principal protector óptico el cual reduce desde un 70 hasta en un 89% la inactivación de conidios de *B. bassiana* en condiciones de alta radiación UV. Qi *et al.* (2024) realizaron un estudio en el que probaron una formulación en emulsión en aceite con *B. bassiana* como ingrediente activo e imidacloprida como protector solar, encontrando que este protector solar químico fue efectivo en la protección de conidios hasta en un 90%. Estos resultados son comparables a lo obtenido en el presente estudio ya que Blankophor resultó proteger a los conidios de *B. bassiana*, manteniendo su viabilidad cercana al 80%, siendo un tipo de protección efectiva contra las condiciones ambientales, sin embargo, los fotoprotectores químicos pueden llegar a ser dañinos tanto como para el medio ambiente como para la salud humana.

De acuerdo con diversos artículos (Carve *et al.*, 2020; Tao *et al.*, 2020; Tudi *et al.*, 2021), está claramente identificado que los protectores solares utilizados tanto en cosmética como en la agricultura son una amenaza para la vida marina y los arrecifes, y para la salud humana (Góralczyk, 2021) causando daños específicamente en el sistema endócrino. Específicamente, existen estudios que constatan que el Blankophor, el cual es un agente blanqueador fluorescente y se utiliza como fotoprotector, tiene un nivel moderado de toxicidad directa y un impacto ambiental, aunque sus productos de degradación y sus efectos sobre la vida acuática siguen requiriendo de una mayor investigación (Peng *et al.*, 2018;

Hamer *et al.*, 2006). Hoy en día, no existe literatura que aborde directamente el uso de microalgas como protectores solares en entomopatógenos, por lo que me gustaría destacar y resaltar la importancia de este trabajo debido a que constituye una contribución pionera en la investigación de esta temática, estableciendo una base para estudios futuros.

Como se mencionó, no hay antecedentes directos sobre esta aplicación específica, sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio y la discusión mencionada hasta el momento sustentan y sugieren evidencia que ha sido previamente documentada que respalda las propiedades de las microalgas como protector de conidios en agentes entomopatógenos contra el daño provocado por la radiación UV.

En cuanto a la parte de formulación, los resultados sugieren que existe una mejor estabilidad de componentes al utilizar en combinación un emulsionante y un estabilizante. Tang (2017) en su investigación sobre las propiedades emulsificantes de un formulado de proteínas de soya, menciona que en una formulación en emulsión es importante utilizar tanto un emulsionante y un estabilizador para mantener el rol de la flexibilidad conformacional de los ingredientes de la formulación, habla sobre como la polarización de proteínas y el cambio de dicha polaridad puede provocar una separación de fases, tal y como se pudo observar en el presente estudio, Zafimahova-Ratisbonne *et al.* (2014) en un estudio sobre la estabilidad de formulaciones en emulsión aceite-agua (O/W), concuerdan de igual manera sobre la importancia del uso de un estabilizados y un emulsionante, ya que mencionan que polariza las proteínas, encapsulan polisacáridos y evita esta separación de fases.

La protección solar de conidios de *B. bassiana* con biomasa de microalgas arrojó resultados comparables con conidios preparados con una sustancia química con actividad fotoprotectora “Blankophor”, de acuerdo con Kaiser *et al.* (2018), quienes ha trabajado en un estudio relacionado, demostraron que la formulación de conidios de *B. bassiana* con sustancias naturales, como ácidos húmicos, puede aumentar significativamente su resistencia a la radiación UV. Por ejemplo, la adición de un 10% de ácido húmico incrementó la persistencia de los conidios hasta un 87% siete días después de la aplicación en condiciones de campo. Se han realizado diversos estudios para evaluar la resistencia a la radiación ultravioleta de diversas microalgas, incluida *Chlorella* sp. como se ha mencionado anteriormente, y se han identificado cepas con resistencia inherente a la radiación ultravioleta B, lo que sugiere posibles aplicaciones en el desarrollo de materiales protectores contra la

radiación ultravioleta (Han *et al.*, 2014).

También, se ha demostrado resistencia directa a la luz solar, en un estudio realizado por Guardini *et al.* (2021), utilizaron a las microalgas *Scenedesmus* sp. y *Chlorella* sp., demostraron tener resistencia a la radiación solar. Los carotenoides desempeñan un papel crucial en la protección de las especies de *Chlorella* contra el daño fotooxidativo. Los mutantes de *Chlorella vulgaris* con alto contenido de carotenoides han demostrado una mayor tolerancia al estrés fotooxidativo y un mejor rendimiento de biomasa en condiciones de alta irradiación, lo que indica que los carotenoides son un objetivo prometedor para mejorar la eficiencia del uso de la luz y la protección UV en las microalgas.

Otros estudios respaldan los resultados obtenidos de protección solar como por ejemplo en el mencionado por Singh *et al.* (2019) en el que utilizaron *Chlorella sorokiniana* y *Chlorella vulgaris* y demostraron respuestas variables a la exposición a la radiación UV-B. Las cepas de *Chlorella sorokiniana* demostraron diferentes niveles de sensibilidad a la radiación UV-B, y algunas cepas mantuvieron la actividad fotosintética mediante la activación de mecanismos de protección como antioxidantes no enzimáticos y acumulación de pigmentos. *Chlorella vulgaris*, cuando se expuso a la radiación UV-B, exhibió cambios en el rendimiento fotosintético y un mayor potencial antioxidante, lo que refleja su capacidad para proteger contra el daño de la radiación UV-B (Reyes *et al.*, 2023).

9. CONCLUSIONES

- La cepa RAD3 conserva su viabilidad durante al menos 60 minutos cuando es expuesta a la luz UVC, lo que sugiere una notable tolerancia a este tipo de radiación.
- La biomasa de la cepa RAD3 puede preservar la viabilidad de los conidios de *Beauveria bassiana* en un 40% tras una exposición a la luz UVC durante al menos 90 minutos, indicando su potencial como agente protector.
- La biomasa homogenizada y sonicada de la microalga RAD3 mejora la viabilidad de los conidios de *Beauveria bassiana* en un 15% tras la exposición a la luz UVC, destacando la importancia del procesamiento físico-químico para optimizar su capacidad protectora.
- Una formulación en emulsión basada en conidios de *Beauveria bassiana* y biomasa de la cepa RAD3 logra mantener una viabilidad comparable a la obtenida con protectores ópticos comerciales como el Blankophor, lo que posiciona a RAD3 como una alternativa viable y ecológica.

10. PERSPECTIVAS

Probar bioensayos en campo

Validar los resultados obtenidos en laboratorio mediante la realización de bioensayos en condiciones de campo permitiría evaluar el efecto protector del formulado en un entorno real, donde factores ambientales como la radiación UV, la humedad y la temperatura varían constantemente. La implementación de estas pruebas no solo ayudará a determinar la eficacia del formulado en un agroecosistema, sino también a medir el desempeño de la formulación del hongo entomopatógeno en el control de plagas en condiciones prácticas.

Aprovechamiento de la función fotoprotectora de las microalgas en la industria cosmética

Como se ha destacado previamente, las microalgas son una fuente natural de metabolitos secundarios con propiedades fotoprotectoras, como los aminoácidos tipo micosporina y pigmentos carotenoides, los cuales absorben eficientemente la radiación UV. Estas características ofrecen un gran potencial para su aplicación en la industria cosmética, en el desarrollo de protectores solares naturales que sean más seguros para el consumidor y menos dañinos para el medio ambiente. Los futuros estudios deberían centrarse en la extracción y caracterización de estos compuestos, así como en la formulación de productos que combinen propiedades antioxidantes y fotoprotectoras, maximizando su eficacia y sostenibilidad.

Mejoramiento de la producción de microalgas

Optimizar las condiciones de cultivo de las microalgas será fundamental para aumentar su biomasa y la concentración de compuestos bioactivos de interés. Esto incluye investigar la influencia de factores como la intensidad y calidad de la luz, la temperatura, la disponibilidad de nutrientes y el tipo de medio de cultivo. Además, la implementación de tecnologías avanzadas, como fotobiorreactores de alta eficiencia o sistemas de cultivo abiertos bien diseñados, podría incrementar significativamente la productividad y reducir los costos de producción, facilitando su escalamiento industrial.

11. BIBLIOGRAFÍA

Albuquerque G, Behrens M, Moragas-Tellis PG, Chagas M, Cassiano F, Silva A, 2022. Flavonols and Flavones as Potential anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial compounds. In: Oxidative medicine and celular longevity, Wiley Library, issue2

Álvarez-Gomez F, Korbee N, Figueroa F. 2016. Analysis of antioxidant capacity and bioactive compounds in marine macroalgal and lichenic extracts using different solvents and evaluation methods. *Ciencias marinas*. 42, 271–288

Araújo R, Alcantar-Rivera B, Meléndez-Sánchez E, Martínez-Prado M, Sosa-Hernández J, Iqbal H, Parra-Saldivar R, Martínez-Ruiz M. 2022. Effects of UV and UV-vis irradiation on the production of microalgae and macroalgae: new alternatives to produce photobioprotectors and biomedical compounds. *Molecules*, 27(16). <https://doi.org/10.3390/molecules27165334>

Athanassiou CG, Rumbos CI, Sakka M, Potin O, Storm C, Dillon AB. 2017. Delivering *Beauveria bassiana* with electrostatic powder for the control of stored-product beetles. *Pest management science*, 73(8), 1725-1736.

Ballard J, Ellis D, Payne C. 2000. The role of formulation additives in increasing the potency of *Cydia pomonella* granulovirus for codling moth larvae, in laboratory and field experiments. *Biocontrol Science and Technology*. 10, 627–640

Basso-Sartori R, Rodriguez-Padron R, Ramirez-Merida L, 2023, Current status of the microalgae application in agriculture and aquaculture, *Intechopen*, doi: 10.5772/intechopen.1002278

Bustillos-Rodriguez J, Ordóñez-García M, Ornelas-Paz J, Sepúlveda-Ahumada D, Zamudio-Flores P, Acosta-Muñiz C, Gallegos-Morales G, Berlanga-Reyes D, Rios-Velasco C. 2023. Effect of high temperatura and UV radiation on the insecticidal capacity of a *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus microencapsulated in a matrix based on oxidized corn starch, *Neotropical entomolgy*, 52: 104-113 <https://doi.org/10.1007/s13744-022-01016-y>

Braga GUL, Rangel DEN., Fernandes ÉKK, Flint SD., & Roberts, D. W. 2015. Molecular and physiological effects of environmental stress on fungal conidia. *Current Genetics*, 65(3), 475-483.

Calderon-García S, 2023, Caracterización de la integridad de las microsporas de *Selaginella novoleonensis* bajo condiciones ambientales simuladas de Marte, doi 10.13140/RG.2.2.11227.95522

Careri M, Furlattini L, Mangia A, Musci M, Anklam E, Theobald A, Von Holst C. 2001. Supercritical fluid extraction for liquid chromatographic determination of carotenoids in *Spirulina Pacifica* algae: A chemometric approach. *Journal of Chromatography A* . A, 912, 61–71

Carreto JI, Carignan MO, Montoya NG. 2001. Short-term effects of ultraviolet radiation on the dinoflagellate *Alexandrium catenella*. Pigment bleaching and inhibition of MAA synthesis. In *Aquaculture, Environment and Marine Phytoplankton: Proceedings of a Symposium Held in Brest, 21–23 1st ed.*; Ifremer: Plouzané, France, p173

Carve M, Nugegoda D, Allinson G, Shimeta J. 2020. A systematic review and ecological risk assessment for organic ultraviolet filters in aquatic environments. *Environmental pollution*, 268 Pt B, 115894. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115894>

Castillejos V, Trujillo J, Ortega LD, Santizo JA, Cisneros J, Penagos DI, Valle J, Williams T. 2002. Granular phagostimulant nucleopolyhedrovirus formulations for control of *Spodoptera frugiperda* in maize. *Biological Control*, 24(3), 300–310. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00030-0](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00030-0)

Cakmak T, Simon O, Kaydan MB, Tange DA, Rodríguez AMG, Díaz APB, Murillo PC, Suárez EH. 2021. Effects of several UV-protective substances on the persistence of the insecticidal activity of the Alphabaculovirus of *Chrysodeixis chalcites* (ChchNPV-TF1) on banana (*Musa acuminata*, Musaceae, Colla) under laboratory and openfield conditions. *PLoS ONE*, 16: 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250217>

Cisneros J, Pérez JA, Penagos DI, Ruiz VJ, Goulson D, Caballero P, Cave RD, Williams T. 2002. Formulation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Biological Control*, 23(1), 87–95. <https://doi.org/10.1006/bcon.2001.0985>

Colina F, Carbó M, Meijón M, Cañal MJ, Valledor L. 2020. Low UV-C stress modulates *Chlamydomonas reinhardtii* biomass composition and oxidative stress response through proteomic and metabolomic changes involving novel signalers and effectors. *Biotechnol. Biofuels*, 13, 110.

Curk M, Trdan S, 2024, Benefiting from complexity: exploring enhanced biological control effectiveness via the simultaneous use of various methods for combating pest pressure in agricultura, *Agronomy* 14(1), 199; <https://doi.org/10.3390/agronomy14010199>

Del Rincon-Castro M, Zanella-Saenz I, Herniou E, 2021. Genomic characterization of six Mexican baculovirus strains with activity against *Spodoptera frugiperda*, *Le studium multidisciplinary journal*, 4: 6-15.

Dimova D, Dobрева D, Panayotova V, Makedonski L, 2021, DPPH antiradical activity and total phenolic content of methanol and ethanol extracts from macroalgae (*Ulva rigida*) and microalgae (*Chlorella*), *Scripta Scientifica Pharmaceutica* 6(2):37

Domínguez-Gómez M, Romo-Sáenz C, Gomez-Flores R, González-Ochoa G, García-Romero A, Orozco-Flores A, Rodríguez-Padilla C, Tamez-Guerra P. 2024. In vitro antitumor, antioxidant, and hemolytic activities of *Chlorella sorokiniana* methanol extracts and collective fractions. *Applied Sciences*. <https://doi.org/10.3390/app14209613>.

El-Helaly A. 2020. Moringa water extract promising additive to prolong the activity of baculovirus under field-sunlight conditions in Egypt. *Brazilian Journal of Biology*, 80(4), 891–896. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.225485>

Fernández-Bravo M, Bonnet J, Quesada-Moraga E, Garrido-Jurado I. 2024, Imperfect match between radiation exposure times required for conidial viability loss and infective capacity reduction attenuate UV-B impact on *Beauveria bassiana*. *Pest Management Science*, 80: 1557-1565. <https://doi.org/10.1002/ps.7889>

Feng MG, Poprawski TJ, Khachatourians GG. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol science and technology*, 4(1), 3-34.

Gamal B, Hamed A, Elawady M, Gomah M, Hassan M. 2024. Bioactivity Assessment of *Chlorella* Algae as Antioxidant Potential. *Benha Journal of Applied Sciences*. <https://doi.org/10.21608/bjas.2024.305580.1460>.

Gardner W, Roy M, Sutton R. 1977. Persistence of *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi*, and *Nosema necatrix* on soybean foliage, *Environmental Entomology*, 6 (5): 616–618, <https://doi.org/10.1093/ee/6.5.616>

Garrido-Jurado I, Resquín-Romero G, Ríos-Moreno A, Quesada-Moraga E. (2020). Advances in the development of bait formulations for the application of entomopathogenic fungi. *Pest Management Science*, 76(3), 929-938.

Gelaye Y, Negash B. 2023. The role of baculoviruses in controlling insect pests: A review. *Cogent Food and Agriculture*, 9(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2023.2254139>

Ghaeni M, Roomian L, Moradi Y. 2014. Evaluation of carotenoids and chlorophyll as natural resources for food in *Spirulina* Microalgae. *Appl. Food Biotechnol.*, 2, 39–44

Ghajar F, Holford P, Cother E, Beattie A. 2006. Enhancing survival and subsequent infectivity of conidia of potential mycoherbivores using UV protectants. *Biocontrol Science and Technology*, 16(8), 825-839.

Gómez J, Guevara J, Cuartas P, Espinel C, Villamizar L. 2013. Microencapsulated *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus: insecticidal activity and effect on arthropod populations in maize. *Biocontrol Science and Technology*, 23(7), 829–846. <https://doi.org/10.1080/09583157.2013.802288>

Góralczyk K. 2021. A review of the impact of selected anthropogenic chemicals from the group of endocrine disruptors on human health. *Toxics*, 9. <https://doi.org/10.3390/toxics9070146>.

Goulson, D., Martinez, A. M., Hughes, W. O., & Williams, T. (2000). Effects of optical brighteners used in biopesticide formulations on the behavior of pollinators. *Biological control*, 19(3), 232-236.

Grandi C, Borra M, Militello A, Polichetti A. 2016. Impact of climate change on occupational exposure to solar radiation. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 52, 343–356.

Grzywacz D, Moore S. 2017. Production, formulation, and bioassay of baculoviruses for pest control. In *Microbial control of insect and mite pests* (pp. 109-124). Academic Press

Guardini Z, Dall'Osto L, Barera S, Jaberri. C, Cazzaniga S, Vitulo N, Bassi R. 2021. High carotenoid mutants of *Chlorella vulgaris* show enhanced biomass yield under high irradiance. *Plants*, 10. <https://doi.org/10.3390/plants10050911>

Guo J, Wu S, Zhang F, Huang C, He K, Babendreier D, Wang Z. 2020. Prospects for microbial control of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: a review. *BioControl*, 65(6), 647–662. <https://doi.org/10.1007/s10526-020-10031-0>

Han M, Han H, Jung M, Yoo R, Hwang C, Myung S, Son Y, Yoon Y, Lee C. 2014. Screening of freshwater microalgae for resistance to ultraviolet radiation, *Journal of Marine Bioscience and Biotechnology*, 6, 131-137. <https://doi.org/10.15433/KSMB.2014.6.2.131>

Hamer E, Moore C, Denning D. 2006. Comparison of two fluorescent whiteners, Calcofluor and Blankophor, for the detection of fungal elements in clinical specimens in the diagnostic laboratory. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 12 (2), 181-184. <https://doi.org/10.1111/J.1469-0691.2005.01321.X>.

Hajek AE, Eilenberg J. 2018. *Natural enemies: An introduction to biological control*. Cambridge University Press.

Hay WT, Behle RW, Berhow MA, Miller AC, Selling GW. 2020. Biopesticide synergy when combining plant flavonoids and entomopathogenic baculovirus. *Scientific Reports*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63746-6>

Hoong-Wy Lee T, Show P-L, Chuyan-Ong H, Chuan-Ling T, Chi-Wei J, Shu-Chang J, 2022, Microalgae isolation and cultivation technology for mass production, Springer Nature Link, pp 1- 29

Huang JJ, Lin S, Xu W, Cheung PCK. 2018. Enhancement of the production of bioactive microalgal metabolites by ultraviolet radiation (UV-A 365 nm). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 10215–10224.

Kaiser D, Bacher S, Mène-Saffrané L, Grabenweger G. 2019. Efficiency of natural substances to protect *Beauveria bassiana* conidia from UV radiation. *Pest Management Science*. 75(2):556-563. doi: 10.1002/ps.5209. PMID: 30221461; PMCID: PMC6587961.

Krieg A, Groñner A, Huber J, Zimmermann G. 1981. Inaktivierung von verschiedenen Insektenpathogenen durch ultraviolette Strahlen. *Journal of Plant Diseases and Protection* 88:3848.

León-Díaz R, 2020, Cianobacterias como fuente natural de protectores contra la radiación ultravioleta: una mini revision, Universidad de La Laguna, San Cristobal de La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, España

Ljubic A, Holdt SL, Jakobsen J, Bysted A, Jacobsen C. 2021. Fatty acids, carotenoids, and tocopherols from microalgae: Targeting the accumulation by manipulating the light during growth. *The Journal of Applied Phycology*. 33, 2783–2793 (B)

Ljubic A, Thulesen ET, Jacobsen C, Jakobsen J. 2021. UV-B exposure stimulates production of vitamin D3 in selected microalgae. *Algal Research.*, 59, 102472. (A)

López-Chuken U, Young S, Guzman-Mar L. 2010. Evaluating a 'biotic ligand model' applied to chloride-enhanced Cd uptake by *Brassica juncea* from nutrient solution at constant Cd²⁺ activity. *Environmental Technology* 31:307-318

Martínez-Ruiz M, Martínez-González CA, Kim DH, Santiesteban-Romero B, Reyes-Pardo H, Villaseñor-Zepeda KR, Meléndez-Sánchez ER, Ramírez-Gamboa D, Díaz-Zamorano AL, Sosa-Hernández JE, Coronado-Apodaca KG, Gámez-Méndez AM, Iqbal H. MN, Parra-Saldivar R. 2022. Microalgae Bioactive Compounds to Topical Applications Products A Review. *Molecules*, 27(11), 3512. <https://doi.org/10.3390/molecules27113512>

Ma H, Cao L, Wei Z, Zheng J, Zou S, Zhao L, Li Y, Hu Q, Han D. 2022. Type I diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) from the unicellular green alga *Haematococcus pluvialis* is a xanthophyll acyltransferase. *Algal Research* . 64, 102720

Mahfouz H, Mahmoud M, Essam R. 2018. Prospects of Bio-pesticides for the Future in Pest Management. *Egyptian Journal of Botany*, 58(2), 145-156.

Moldovan A, Doni E, Munteanu-Molotievskiy N, & Toderas I. 2022. The effect of UV radiation on entomopathogenic fungal strains *Beauveria bassiana* CNMN- FE-01 and *Cordyceps fumosorosea* CNMN-FE-02. *Akademios*. <https://doi.org/10.52673/18570461.22.1-64.04>

Moore SD, Kirkman W, Richards GI, Stephen PR. 2015. The *Cryptophlebia leucotreta* granulovirus 10 years of commercial field use. *Viruses*, 7(3), 1284-1312.

Meirelles LN, Mesquita E, Corrêa TA, Bitencourt RDO, Oliveira JL, Fraceto LF, Bittencourt VREP. 2023. Encapsulation of entomopathogenic fungal conidia: evaluation of stability and control potential of *Rhipicephalus microplus*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 14(4), 102184.

Mweke A, Rwomushana I, Okello, A, Chacha D, Guo J, Luke B. 2023. Management of *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith using recycled virus inoculum from larvae treated with baculovirus under field conditions. *Insects*, 14(8). <https://doi.org/10.3390/insects14080686>

Olasehinde T, Odjadjare E, Mabinya L, Olaniran A, Okoh A. 2019. *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella minutissima* exhibit antioxidant potentials, inhibit cholinesterases

and modulate disaggregation of β -amyloid fibrils. *Electronic Journal of Biotechnology*. <https://doi.org/10.1016/J.EJBT.2019.03.008>

Paredes-Sánchez FA, Rivera G, Bocanegra-García V, Martínez-Padrón HY, Berrones-Morales M, Niño-García N, Herrera-Mayorga V. 2021. Advances in control strategies against *Spodoptera frugiperda*. A review. *Molecules*, 26(18). <https://doi.org/10.3390/molecules26185587>

Peng Y, Fang W, Krauss M, Brack W, Wang Z, Li F, Zhang X. 2018. Screening hundreds of emerging organic pollutants (EOPs) in surface water from the Yangtze River Delta (YRD): Occurrence, distribution, ecological risk. *Environmental pollution*, 241, 484-493. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.061>.

Peredo EL, Cardon ZG. 2020, Shared up-regulation and contrasting down-regulation of gene expression distinguish desiccation-tolerant from intolerant green algae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Jul 21;117(29):17438-17445. doi: 10.1073/pnas.1906904117. Epub 2020 Jul 7. PMID: 32636259; PMCID: PMC7382218.

Pszczolkowski MA, Brown JJ. 2002. Prospects of monosodium glutamate use for enhancement of spinosad toxicity against codling moth neonates. *Phytoparasitica*, 30, 243-252.

Qi D, Shao Y, Yang R, Liu C, Feng G, Pan W, Feng M, Tong S. 2024. Emulsifiable oil-formulated *Beauveria bassiana* competes with imidacloprid for seasonal control of cereal aphids in Zhejiang, China. *Pest management science*. <https://doi.org/10.1002/ps.8001>.

Rangel P, Garcia K, Fortis M, Trejo-Valencia R, Rueda-Puente E, Esparza J, 2015, Nutracueticla quality of cantaloupe melon fruits produced under fertilization with organic nutrient solution, *Ciencia e Investigación Agraria, Rev, Latin de Ciencias de la Agricultura*, ISSN-e 0718-1620, vol 42, n 3, pp 475-481

Rastogi R, Madamwar D, Nakamoto H, Incharoensakdi A, 2020, Resilience and self-regultaion processes of microalgae under UV radiation stress, *Journal of Photochemistry & Photobiology, Photochemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.photochemrev.2019.100322>

Reyes T, Chiellini C, Barozzi E, Sandoval C, Echeverría C, Guglielminetti L. 2023. Exploring the physiological multiplicity of native microalgae from the Ecuadorian highland,

Italian lowland and indoor locations in response to UV-B. *International Journal of Molecular Sciences*, 24. <https://doi.org/10.3390/ijms24021346>

Rossouw S, Mathulwe L, Malan A, Stokwe, N. 2023. Effect of visible light and ultraviolet light on the pathogenicity of entomopathogenic fungi to false codling moth, *Thaumatotibia leucotreta* (Lepidoptera: Tortricidae) larvae. *African Entomology*. <https://doi.org/10.17159/2254-8854/2023/a13141>

Ruiz-Lozano B. 2023. Control biológico del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* con Baculovirus como agentes de inocuidad alimentaria para la producción de maíz, Universidad de Guanajuato, Irapuato, Guanajuato, México.

Saewan N. Jimtaisong A. 2015. Natural products as photoprotection. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 14, 47–63.

Sangeetha J. Thangadurai, D. 2022. Algal Genetic Resources: Cosmeceuticals, nutraceuticals, and pharmaceuticals from algae. CRC Press.

Santiesteban-Romero B, Martínez-Ruiz M, Sosa-Hernández JE, Parra-Saldívar R, Iqbal HMN, 2022. Microalgae Photo-Protectants and Related Bio-Carriers Loaded with Bioactive Entities for Skin Applications—An Insight of Microalgae Biotechnology. *Marine Drugs*, 20(8). <https://doi.org/10.3390/md20080487>

Sayed A, Behle R, El-Masry G. 2020. Enhancing the efficacy of certain spray-dried baculovirus (*AgipMNPV*) against cutworm, *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae), *Egyptian academic journal of biological sciences*, ISSN 1687-8809, 13(1): 123-133

Saminathan N, Subramanian J, Sankaran Pagalahalli S, Theerthagiri A, Mariappan P. 2025. Entomopathogenic fungi: translating research into field applications for crop protection. *Arthropod-Plant Interactions*, 19(1), 1-27.

Sharma K, Schenk PM. 2015. Rapid induction of omega-3 fatty acids (EPA) in *Nannochloropsis* sp. by UV-C radiation. *Biotechnology and Bioengineering*. 112, 1243–1249.

Singh R, Upadhyay A, Singh D, Singh J, Singh D. 2019. Photosynthetic performance, nutrient status and lipid yield of microalgae *Chlorella vulgaris* and *Chlorococcum humicola* under UV-B exposure. *Current Research in Biotechnology*. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2019.10.001>

Sinno M, Ranesi M, Di-Lelio I, Iacomino G, Becchimanzi A, Barra E, Molisso D, Pennacchio F, Digilio M, Vitale S, Turrá D, Harizanova V, Lorito M, Woo S, 2021, Selection of endophytic *Beauveria bassiana* as a dual biocontrol agent of tomato pathogens and pests, *Pathogens* 10(10), 1242; <https://doi.org/10.3390/pathogens10101242>

Song X, Bo Y, Feng Y, Tan Y, Zhou C, Yan X, Ruan R, Xu Q, Cheng P, 2022, Potential applications for multifunctional microalgae in soil improvement, Review article, *Frontiers environment science*, Vol 10; <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.1035332>

Tamanna A, Saha A, Hoque M, Aktaruzzaman M, Nahid-Hasan M, 2024, Evaluation of phytochemical screening, antioxidant and thrombolytic activity of methanolic extract of *Phlogacanthus thyrsoflorus*, *South Asian Research Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol 5, issue 1, jab-feb

Tang, C. 2017. Emulsifying properties of soy proteins: A critical review with emphasis on the role of conformational flexibility. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 2636 - 2679. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1067594>

Tao J, Bai C, Chen Y, Zhou H, Liu Y, Shi Q, Pan W, Dong H, Li L, Xu H, Tanguay R, Huang C, Dong Q. 2020. Environmental relevant concentrations of benzophenone-3 induced developmental neurotoxicity in zebrafish. *The Science of the total environment*, 721, 137686. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137686>

Tay WT, Meagher RL, Czepak C, Groot AT. 2023. *Spodoptera frugiperda*: Ecology, Evolution, and Management Options of an Invasive Species. *Annual Review of Entomology*, 68, 299–317. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120220-102548>

Tokutsu, Konomi Fujimura-Kamada, Tomohito Yamasaki, Keisuke Okajima, Jun Minagawa, 2023 UV-A/B radiation rapidly activates photoprotective mechanisms in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Plant Physiology*, Volume 185, Issue 4, April 2021, Pages 1894–1902, <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab004>

Treves H, Raanan H, Finkel O, Berkowicz S, Keren N, Shotland Y, Kaplan A. 2013. A newly isolated *Chlorella* sp. from desert sand crusts exhibits a unique resistance to excess light intensity. *FEMS microbiology ecology*, 86 3, 373-380. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12162>.

Tudi M, Ruan H, Wang L, Lyu J, Sadler R, Connell D, Chu C, Phung D. 2021. Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment.

International Journal of Environmental Research and Public Health, 18.
<https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>

Ueno Y, Aikawa S, Kondo A, Akimoto S. 2018. Adaptation of light-harvesting functions of unicellular green algae to different light qualities. *Photosynthesis Research*, 139, 145-154. <https://doi.org/10.1007/s11120-018-0523-y>

Ullman J. Grimm D. 2021. Algae and their potential for a future bioeconomy, landless food production, and the socio-economic impact of an algae industry, Springer Nature Link, Landless Workshop, Vol 11, p261-26

Villaró S, Ciardi M, Morillas-España A, Sánchez-Zurano A, Ación-Fernández,G, Lafarga T. 2021. Microalgae Derived Astaxanthin: Research and Consumer Trends and Industrial Use as Food. *Foods*. 10, 2303.

Wang H, Peng H, Li W, Cheng P, Gong M. 2021. The Toxins of *Beauveria bassiana* and the strategies to improve their virulence to insects, *Frontiers Microbiology*, Volume 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705343>

Wogene S, Lamnganbi M, Tibor J, Zoltan M, 2023, Potential benefit of microalgae and their interaction with bacteria to sustainable crop production, Review, Springer Nature Link, Vol 101, p 53-65

Xiong F, Komenda J, Kopecký J, Nedbal L, 1997. Strategies of ultraviolet-B protection in microscopic algae. *Physiologia Plantarum*. 100, 378–388.

Yearla SR, Padmasree K. 2016. Preparation and characterisation of lignin nanoparticles: evaluation of their potential as antioxidants and UV protectants. *Journal of Experimental Nanoscience*, 11(4), 289-302.

Yu L, Xu S, Tong S, Ying S, Feng M. 2022. Optional strategies for low-risk and non-risk applications of fungal pesticides to avoid solar ultraviolet damage. *Pest management science*. <https://doi.org/10.1002/ps.7086>

Zafimahova-Ratisbonne A, Wardhono E, Lanoisellé J, Saleh K, Clause D. 2014. Stability of W/O Emulsions Encapsulating Polysaccharides. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 35, 38 - 47. <https://doi.org/10.1080/01932691.2013.773444>.

Zhuang D, He N, Khoo KS, Ng EP, Chew KW, Ling TC, 2022. Application progress of bioactive compounds in microalgae on pharmaceutical and cosmetics. *Chemosphere*. 291, 132932.

Zimmermann G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, *Biocontrol Science and Technology*, 17:6, 553-596, <http://dx.doi.org/10.1080/09583150701309006>