



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO

FARMACOBIOLOGA

TITULO:

**EFFECTO EN LA RESISTENCIA A INSULINA EN UN MODELO
MURINO DE DIABETES MELLITUS, POR MODIFICACIÓN DE LA
DIETA AIN-93M, POR ALFA-FRUCTOSACARIDOS PROVENIENTES
DE AGAVE.**

PRESENTA:

PASANTE DE Q.F.B. JUANA GUADALUPE FLORES VAZQUEZ

ASESOR: RAFAEL ORTIZ ALVARADO

MORELIA, MICHOACAN DE OCAMPO, NOVIEMBRE DE 2023

INDICE GENERAL

	Página
Dedicatoria.....	5
Agradecimientos	5
Resumen	7
Abstract.....	8
Abstrait.....	9
1. Introducción.....	11
1.1 Biodiversidad en México	11
1.2 Diversidad biológica de la especie Agave en México	12
1.3 Tipos de agave	15
1.4 Tipos de agave de mayor explotación en México	17
1.5 Enfoque histórico social de la explotación del Agave	18
1.6 Producción sustentable de agave y sus derivados	19
1.7 Aguamiel (prebiótico)	20
1.8 Producción y consumo de bebidas fermentadas	20
1.9 Destilados de agave producción en México	24
1.10 Importancia social, económica de la agroindustria del Agave	27
1.10.1 Auge industrial de los productos de agave	27
1.10.2 Más allá de la producción de destilados	29
1.11 Actividad biológica de los prebióticos	30

1.11.1 Prebióticos	30
1.11.2 Recomendaciones de consumo de los prebióticos	32
1.12. Diabetes Mellitus en la Actualidad	34
1.12.1 Resistencia a la insulina	34
2. Planteamiento del Problema	35
3. Problema a Resolver	36
4. Justificación	37
5. Objetivos	38
5.1 General	38
5.2 Objetivos específicos	38
6. Material y Métodos	39
7. Resultados y Análisis	42
8. Discusión	46
9. Conclusión	47
10. Referencias bibliográficas	48

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	13
Figura 2.	14
Figura 3.	23
Figura 4.	24
Figura 5.	28
Figura 6.	31
Figura 7.	33

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	16
Tabla 2.	21
Tabla 3.	41
Tabla 4.	43
Tabla 5.	45

Dedicatoria

Este trabajo lo escribí para ti, quien tuvo muchos problemas y batallaste mucho para llegar a este punto, pero lo lograste ya sea con o sin ayuda de alguien, eres fuerte, valiente, inteligente y te amo mucho.

Arriba la esperanza abuelita.

Agradecimientos

Este logro no lo habría podido hacer sin la ayuda de mis seres querido tales como mis padres, mis hermanos, mis cuñadas, mis sobrinos de misma manera agradecer a mis abuelos que ya no están conmigo pero sé que están orgullosos donde quiera que estén y a mi abuela Juana, a mis tíos, primos, al igual agradecer a cada una de mis mascotas pero primer lugar a Mylon por haber llegado a mi vida para hacerla más divertida al igual que estresante.

También quiero agradecer a cada una de esas personas que llegaron por pequeños instantes de vida, me enseñaron mucho, como a los amigos que hice a lo largo de mi carrera, Abigahil Núñez, Cineret Ávila, Mariela López, Paulina Márquez, Fabian López y Benny Aburto, los compañeros de las secciones 15, 05, 01 alimentos pero en especial a los *alimensos*, a los que estuvieron desde la preparatoria como mi mejor amigo Alberto Rodriguez, Magdalena Mora, Sergio Rodriguez e Ivonne Irepan pero no menos importante mi gemelo Marcos Pereyra quien estuvo siempre ahí tanto en mis equivocaciones y en mis logros.

Agradecimiento Institucional

El presente trabajo de investigación fue financiado parcialmente, por la COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO, PROYECTO VIGENTE 2023, EN LA FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA Y LOS LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN ENTRE ELLOS AL CUERPO ACADÉMICO CONSOLIDADO DE FISIOPATOLOGÍAS-211

Resumen

El funcionamiento intestinal, regula múltiples actividades fisiológicas sistémicas, entre ellas, la absorción de ácidos grasos libres, y de carbohidratos provenientes de la ingesta alimentaria y de la fermentación por diversos microorganismos de la flora normal. Actualmente se atribuyen a diversos microorganismos funciones de tipo probióticas, las cuales han comenzado a ser relacionadas con diversos efectos de tipo acumulativo, como es el sobrepeso y obesidad. La dieta mexicana, ha sido desplazada, por el consumo de alimentos ricos en carbohidratos simples y pobres en fibra dietética. Lo cual ha sido relacionado con el sobrepeso y obesidad. La mayor parte de los microorganismos que tienen funciones probióticas se encuentran en alimentos fermentados de origen láctico, no obstante que diversos productos ancestrales, son el producto de la fermentación, como el aguamiel y el pulque, los cuales son productos fermentados, que requieren una mayor investigación. El presente trabajo, describe los procesos físicos que permitieron la purificación de α -oligofructosacaridos; su caracterización bioquímica, microbiológica y su uso en dietas estándar referenciadas como la AIN-93G y la AIN-93M para su utilización en modelos murinos que reproducen diversos procesos patológicos como Diabetes Mellitus, Sobrepeso e Insuficiencia hepática, que tienen como base la función y estructura celular intestinal; las cuales puede ser afectadas, por diferentes moléculas, agregadas y eliminadas en la dieta; así el presente trabajo, sienta las bases para el uso de diversos productos prebióticos como herramienta de investigación básica en el área química y biológica con implicaciones en la salud humana, a través del uso de prebióticos obtenidos del Agave.

Palabras clave: sobrepeso; flora normal intestinal; prebióticos; probióticos; α -oligofructosacaridos

Abstract

Intestinal functioning regulates multiple systemic physiological activities, including the absorption of free fatty acids and carbohydrates from food intake and fermentation by various microorganisms of the normal flora. Currently, probiotic-type functions are attributed to various microorganisms, which have begun to be related to various cumulative effects, such as overweight and obesity. The Mexican diet has been displaced by the consumption of foods rich in simple carbohydrates and poor in dietary fiber. Which has been related to overweight and obesity. Most of the microorganisms that have probiotic functions are found in fermented foods of lactic origin, although various ancestral products are the product of fermentation, such as aguamiel and pulque, which are fermented products that require greater investigation. The present work describes the physical processes that allowed the purification of α -oligofructosaccharides; its biochemical and microbiological characterization and its use in referenced standard diets such as AIN-93G and AIN-93M for use in murine models that reproduce various pathological processes such as Diabetes Mellitus, Overweight and Liver failure, which are based on the function and structure intestinal cell; which can be affected by different molecules added and eliminated in the diet; Thus, the present work lays the foundations for the use of various prebiotic products as a basic research tool in the chemical and biological area with implications for human health, through the use of prebiotics obtained from Agave.

Keywords: overweight; normal intestinal flora; prebiotics; probiotics; α -oligofructosaccharides

Abstract

Le fonctionnement intestinal régule de multiples activités physiologiques systémiques, notamment l'absorption des acides gras libres et des glucides provenant de la prise alimentaire et de la fermentation par divers micro-organismes de la flore normale. Actuellement, les fonctions de type probiotique sont attribuées à divers micro-organismes, qui commencent à être associés à divers effets cumulatifs, tels que le surpoids et l'obésité. Le régime alimentaire mexicain a été remplacé par la consommation d'aliments riches en glucides simples et pauvres en fibres alimentaires. Ce qui a été lié au surpoids et à l'obésité. La plupart des micro-organismes ayant des fonctions probiotiques se trouvent dans les aliments fermentés d'origine lactique, bien que divers produits ancestraux soient le produit de la fermentation, comme l'aguamiel et le pulque, qui sont des produits fermentés qui nécessitent une enquête plus approfondie. Le présent travail décrit les processus physiques ayant permis la purification des α -oligofructosaccharides ; sa caractérisation biochimique et microbiologique et son utilisation dans des régimes alimentaires standards référencés tels que AIN-93G et AIN-93M pour une utilisation dans des modèles murins qui reproduisent divers processus pathologiques tels que le diabète sucré, le surpoids et l'insuffisance hépatique, qui sont basés sur la fonction et la structure intestinale cellulaire; qui peut être affecté par différentes molécules ajoutées et éliminées dans l'alimentation ; Ainsi, le présent travail jette les bases de l'utilisation de divers produits prébiotiques comme outil de recherche fondamental dans le domaine chimique et biologique avec des implications pour la santé humaine, grâce à l'utilisation de prébiotiques obtenus à partir d'Agave.

Mots-clés: surpoids; flore intestinale normale; prébiotiques; les probiotiques;

α -oligofructosaccharides

1. Introducción

1.1 Biodiversidad en México

México ocupa el cuarto lugar en flora del mundo con 26,000 diferentes especies, es el segundo lugar con el contenido de ecosistemas. (<https://embamex.sre.gob.mx/dinamarca/images/pdf/meganota.pdf>)

México uno de los países a nivel global como uno de los más diversos, al formar de un grupo selecto de naciones poseedoras de mayor diversidad de biodiversidad, contando con casi el 70% de la diversidad mundial de especies (anfibios, reptiles, aves y mamíferos y plantas vasculares).

Uno de los principales criterios para pertenecer al grupo es el endemismo, los otros criterios son: diversidad de especies, diversidad de niveles taxonómicos superiores (géneros, familias, etc.), y la diversidad de ecosistemas, incluyendo la presencia de ecosistemas y de selvas tropicales. (<https://www.biodiversidad.gob.mx/pais/quees>)

En 1982 existía el Programa Nacional de Desmonte (Pronade) en México el cual era auspiciado por la secretaría de agricultura y ganadera, su objetivo era el desmonte de tierras ociosas, las cuales la mayor parte era selva perennifolia ya sea alta o media y caducifolia, este programa causó 10 años después el desmonte de 400, 000 ha de los estados, Jalisco, Veracruz, Campeche, Yucatán, Quintana Roo, Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, San Luis Potosí, Tamaulipas y Chiapas, a nivel nacional se registró un desmonte de 24 millones de hectáreas lo que corresponde al 12% del territorio nacional. Los habitantes de las regiones afectadas perdieron el sustento que generaban los bosques y selvas, este programa ocasionó el aumento de la pobreza extrema en el país. México siendo uno de los 17 países megadiversos reúne entre el 65 y 70% de las especies en su territorio (https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532014000200001).

1.2 Diversidad biológica de la especie Agave en México

El territorio mexicano es conocido por su de biodiversidad, y las especies de agaves o magueyes pertenecientes a la familia *Asparagaceae* son un ejemplo muy importante de esa biodiversidad y orografía de México. El género *Agave* es endémico del continente americano (aunque ahora se encuentran *agave* introducidos en muchos sitios de los cuales no son endémicos), como en zonas áridas y semiáridas de México, cuyo ecosistema es propicio para el desarrollo de cactus y otras especies, que originalmente no corresponden a los agaves. En territorio Nacional se han identificado hasta, aproximadamente 200 especies de *Agave*, de las cuales 166 se distribuyen en México y 119 son endémicas [1 , 2]. El subgénero *Littaea* contiene alrededor de 78 especies (Figura 1) mientras que el subgénero *Agave* incluye alrededor de 92 especies (Figura 2), convirtiéndolo en el subgénero de mayor distribución en todo México [3]. Los subgéneros se distinguen por su gran inflorescencia, ya sea una espiga para el subgénero *Littaea* (*Agave angustifolia*, agave espadín) o ramificada con panículas para *Agave* (*Agavae cupreata*, agave michoacano) [4]. La descripción como es la succulencia y rigidez de sus hojas le permiten almacenar agua y adaptarse a lo extremo de la arido y la alta radiación, también presentan un eficiente sistema de absorción de agua a través de sus raíces y la limitada pérdida de agua por transpiración (tipo de metabolismos y estructura), son algunas de las adaptaciones que poseen los agaves para la vida en ecosistemas secos y pedregosos de la orografía mexicana. Su metabolismo fotosintético tipo CAM (metabolismo ácido de las crasuláceas) les permite crecer en suelos y condiciones climáticas pobres en nutrientes, soportando presiones ambientales adversas [2]. Estas adaptaciones evolutivas que se reflejan en las expresiones morfológicas, metabólicas y fisiológicas han permitido a los agaves vivir en una amplia variedad de ambientes, ampliando su distribución geográfica, en la parte norte del continente Americano [3 , 5].



Figura 1. Distribución y número de especies del subgénero *Littaia* de *Agave* por estados de los Estados Unidos Mexicanos (EUM). La intensidad del color es proporcional al número o especie.

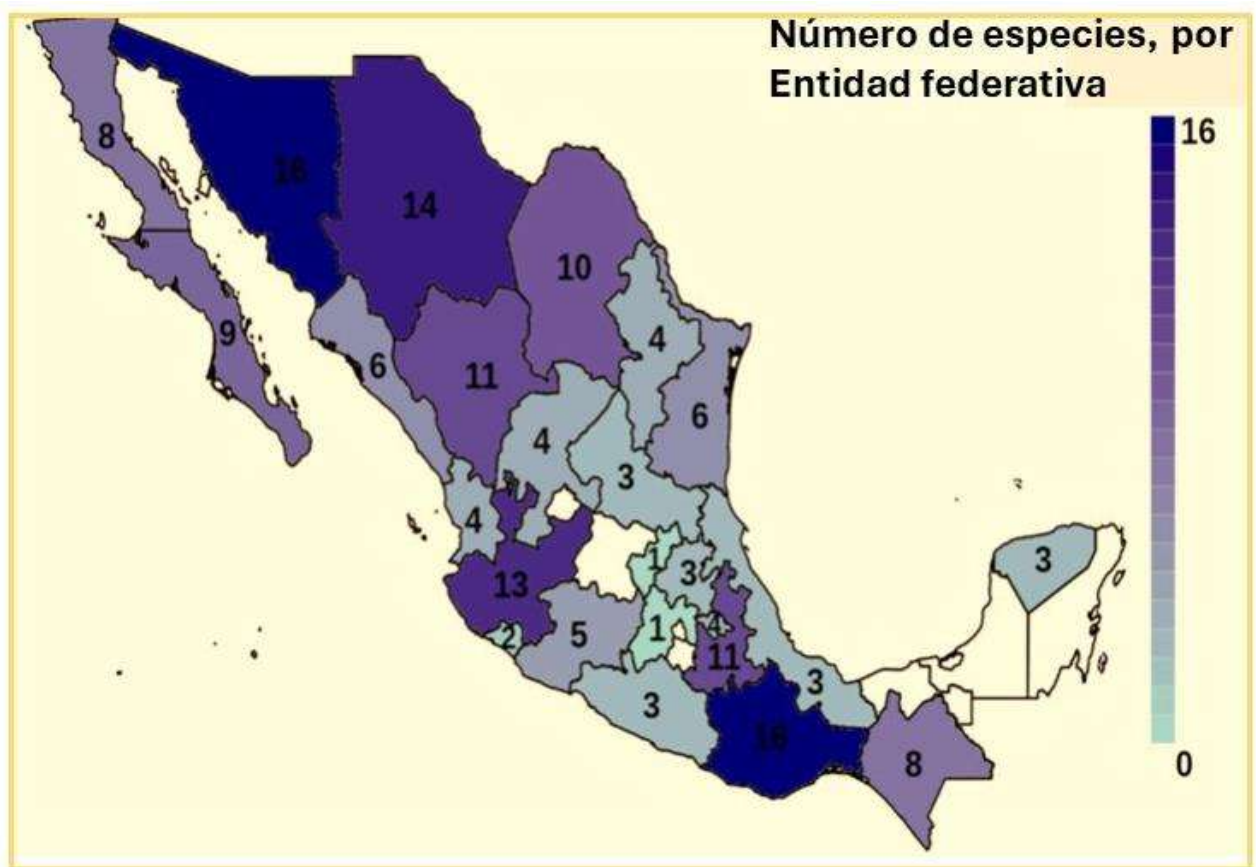


Figura 2. Distribución y número de especies del subgénero *Agave Agave* por estados de México. La intensidad del color es proporcional al número o especie.

1.3 Tipos de agave

El género de agave cuenta con aproximadamente 200 diferentes especies de las cuales 150 se encuentran en México lo que representa un 75% del grupo.

(<https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/agave-planta-de-las-maravillas#:~:text=El%20g%C3%A9nero%20agave%20cuenta%20con,de%20este%20grupo%20de%20plantas.>)

Uno de los nombres más comunes que recibe esta planta es maguey el cual refiere a una planta suculenta originaria de México, con hojas largas y fibrosas terminadas con forma puntiaguda, este llega a tener de 10 a 20 hojas de color verde claro con una vida promedio de 15 años.

Tabla 1. Clasificación Taxonómica

CLASIFICACIÓN	TAXONÓMICA
Reino:	<i>Plantae</i> (Planta)
División:	<i>Magnoliophyta</i> (Planta con flores)
Clase:	<i>Liliopsida</i>
Orden:	<i>Asparagaceae</i>
Subfamilia:	<i>Agavoideae</i>
Género:	<i>Agave</i>
Especie:	<i>Angustifolia, cupreata, etc</i>
variedad:	<i>Arroqueño, michoacano, paloma, etc.</i>

1.4 Tipos de agave de mayor explotación en México

- *Jabalí*: Originario de Oaxaca, es muy sensible al clima frío, su tiempo de vida es de 8 a 12 años en este año se considera su tiempo de madurez, se usa principalmente en la producción de mezcal.
- *Coyote*: Este puede alcanzar una altura de 2 m, la piña producida es de tamaño mediano, su tiempo de vida promedio es de 15 años, el mezcal que produce puede llegar a ser un poco más denso y con olores poco predecibles.
- *Tepextate o Pitzomel*: Este es uno de los agaves más longevos, ya que su tiempo de vida es de 15 a 25 años, su crecimiento es en suelos secos y poco profundos, los olores y sabores que desprende al momento de ser destilado pueden tener notas a maracuyá, canela o tonos florales.
- *Sierra Negra*: La maduración de tal tarda aproximadamente 25 años, sus hojas llegan a medir de 25 a 30 cm. La destilación de este es limitada por su reproducción.
- *Tobalá*: Su mayor relevancia es su tonalidad rosácea, este llega a tolerar sequías, crece entre los pinos y encinos, los sabores perceptibles son ahumados, ligeros y sutiles.
- *Arroqueño*: Es uno de los que se encuentran en peligro de extinción, por el tiempo de vida ya que es de 18 a 25 años, algunas veces puede llegar a vivir 30 años, en el mezcal su sabor tiene notas a hierbas frescas.
- *Agave tequilana azul*: Es comúnmente el agave utilizado para la producción del tequila ya que contiene un alto contenido de azúcares en el núcleo de la planta lo cual es ideal para la fermentación de bebidas alcohólicas. Su madurez es entre los 8 y 10 años de vida ya que su vida útil es de 12 años.
- *Agave spp.*: Resiste terrenos áridos, sus hojas llegan a medir de 1 a 2 metros, de color blanco - azulado, llega a producir una flor la cual alcanza de 8 a 10 m de altura.
- *Agave cupreata*: Es originario de los estados de Guerrero y Michoacán, su mayor característica son sus espinas de color cobre. El mezcal obtenido de esta planta tiene notas a frutos maduros o naranja al igual que ahumados.

1.5 Enfoque histórico social de la explotación del Agave

Desde una perspectiva histórica, los agaves han jugado un papel crucial en la vida cotidiana de los seres humanos y las culturas mesoamericanas que se desarrollaron, estas culturas explotaron de manera sustentable a estas especies, los que les proporciono una amplia gama de recursos, desde vestido, almacecamientos, gastronómico, de construcción, alimento y producción de bebidas alcohólicas hasta fuente de fibra. La obtención de fibras de estas plantas fue quizás el primer uso que se le dio al agave, ya que se utilizaba para ropa, cestas, redes, cuerdas y más [4]. Se han utilizado varias especies como alimento, las flores hervidas y consumidas, y hornos de barro para cocinar las semillas de agave o “piñas”. Este método fue una práctica ancestral que hoy en día se utiliza para la producción de bebidas destiladas [6]. El uso del agave para producir los licores destilados conocidos hoy como tequila, mezcal y otros aparentemente no era conocido por las civilizaciones pasadas mesoamericanas, ya que la destilación se introdujo durante el proceso de colonización europeo, conocido como la época Virreinal, sin embargo la producción de pulque, hidromiel o aguamiel se ha utilizado desde tiempos prehispánicos, haciendo de estas bebidas las promotoras del cultivo del agave en las civilizaciones mexicanas, precolombinas. Actualmente se conocen y registran más de 70 usos tradicionales para las especies del género Agave [7], clasificados en 22 categorías [8].

Además, los residuos derivados de la elaboración de bebidas destiladas, incluidos los tallos florales, el bagazo (residuos sólidos) y las vinazas (residuos líquidos), tienen diversos usos. Las hojas, extraídas del corazón de la roseta de agave, se utilizan comúnmente en la preparación de platos mexicanos, como en la “barbacoa”, donde las hojas se asan y se utilizan para envolver la carne con especias para cocinar, mientras que se han cocinado residuos de bagazo y vinaza. demostrado como una buena alternativa al compost [9]. Estos desechos son subproductos ricos en polisacáridos que pueden usarse para la producción de oligosacáridos de tipo estructural oligofructosacaridos, que pueden utilizarse empíricamente en productos complementarios para tratar la diabetes o la obesidad [2].

1.6 Producción sustentable de agave y sus derivados

Las fibras de agave tienen una amplia variedad de usos: como alimento para el ganado y en la elaboración de diferentes artesanías, o productos comunes como redes, cuerdas o textiles. En las zonas rurales, los agaves se utilizan ampliamente como cercas vivas para mantener al ganado alejado de los cultivos o las casas, para indicar caminos e incluso para la construcción [10]. *Agave sisalana* (sisal) y *A. fourcroydes* (henequén) son las especies más útiles para la obtención de fibra y se utilizan ampliamente como material de construcción estructural. El *Agave sisalana*, por ejemplo, sigue siendo una fuente importante de fibra en las plantaciones de muchos países de América Latina, Asia y África [11]. La fibra obtenida de agave tiene hoy en día una mayor ventaja sobre las fibras sintéticas, ya que es más asequible, tiene menor densidad, es ecológica y puede reciclarse [12].

Los agaves son muy conocidos en la industria de bebidas destiladas. El tequila y el mezcal se han convertido en símbolos de México en todo el mundo, mientras que el pulque, la bebida alcohólica fermentada prehispánica, se considera una de las primeras bebidas tradicionales derivadas del agave. La bacanora y la raicilla son algunos de los destilados de agave menos conocidos ya que tienen un bajo nivel de industrialización en comparación con el resto de bebidas destiladas [6 , 8].

El pulque es una bebida blanca fermentada que se puede obtener de una amplia variedad de especies de agave como *A. atrovirens* , *A. americana* , *A. salmiana* y *A. mapisaga*. Esta bebida se elabora mediante la fermentación del hidromiel o aguamiel, un extracto azucarado que se acumula dentro del núcleo del agave maduro y que también se puede consumir fresco sin fermentar [13]. El pulque se consume tanto en zonas rurales, donde incluso puede considerarse un alimento importante en la dieta diaria, como en zonas urbanas, donde se puede encontrar en pulquerías y restaurantes mexicanos. Actualmente se promueve el consumo de pulque (alfa-oligofructosacarios) en parte para no perder una tradición prehispánica [14, 15], más las implicaciones de salud es una vertiente que es adecuado seguir explorando en la actual dieta humana.

1.7 Aguamiel (prebiótico)

Una de las bebidas más ancestrales de México elaboradas a partir de agave es el **pulque**, elaborado con especies como *Agave salmiana*, *A. americana* y *A. potatorum* siendo los más comunes. (<https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Bebidas-tradicionales-fermentadas-de-Mexico--alto-potencial-biotecnologico/156>). El pulque es una bebida con consistencia viscosa con un alto grado alcohólico, desde la época prehispánica los aztecas la elaboraban para ceremonias religiosas, fermentando de manera espontánea de la savia del agave, comúnmente conocida como **aguamiel** (jugo de agaves maduros), actualmente su elaboración se rige en el altiplano central del país por las culturas nahuas y otomíes; la microbiota del Pulque se ha sido estudiada, los microorganismos producidos pueden ser, pectinas, inulinasas, y enzimas de tipo glicosiltransferasas, tales como dextrasas, inulosacararas, levansacararas, enzimas sintetizadoras de polisacáridos o polímeros constituidos de monosacáridos como monómeros, ejemplos podrían ser, polímeros de glucosa o fructosa. Estos tienen propiedades prebióticas o se pueden usar como biomateriales en el caso de levanos e inulinas microbianas. (<https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Bebidas-fermentadas-de-agave/157>).

1.8 Producción y consumo de bebidas fermentadas

El uso de procesos de fermentación se ha usado desde tiempos remotos como uso de conservación de alimentos, esto llevó a la creación de diferentes tipos de alimentos y bebidas en países en vías de desarrollo. Estas bebidas fermentadas se obtienen por medio del control de microorganismos o enzimas ya sean del mismo alimento o externos, esto ocasiona un cambio en los componentes. Las bebidas fermentadas se clasifican en no alcohólicas y alcohólicas, un ejemplo de las bebidas no alcohólicas es la fermentación de la leche. En México se produce una gran

variedad de bebidas alcohólicas con diferentes ingredientes tales como: maíz, maguey, agave, piña, y bayas, donde se han utilizado varios tipos de microorganismos. Las principales bebidas alcohólicas reconocidas a nivel mundial de México son: tequila, vino, vino de coyol, mezcal, bacanora, **pulque**, tejuino, tuba, pozol, tepache, hidromiel, atole agrio, sotol, chorote, entre otros. (**Tabla.2**).

Tabla 2. Bebidas fermentadas en México

Bebida fermentada	Sustrato	Microorganismo o enzima utilizada
Atole agrio	Maíz	Bacterias lácticas
Cerveza	Trigo u otros cereales	Levaduras
Chorote	Maíz y cacao	Bacterias lácticas
Coyol	Palma (cocoyol)	Levaduras y bacterias
Hidromiel	Maguey salmiana	Levaduras
Mezcal	Agave	Levaduras y bacterias
Pozol	Maíz	Bacterias lácticas
Pulque	Agave aguamiel	Levaduras y bacterias
Sotol	Maguey	Levaduras
Tejuino	Maíz	Levaduras y bacterias
Tepache	Maíz o piña	Levaduras y bacterias
Tequila	Agave	Levaduras y bacterias
Tuba	Palma de coco	Levaduras y bacterias
Vino	Bayas	Levaduras

En el proceso fermentativo los microorganismos transforman los azúcares y los transforman en CO₂, alcohol y otros compuestos, esto puede incrementar los nutrientes disponibles en el alimento, durante el proceso los compuestos bioactivos de la matriz del alimento son liberados, haciéndose disponibles para su absorción. Las bebidas fermentadas son fuentes de compuestos tales como, fenoles, saponinas, carotenoides y antocianinas, etcétera. Estos compuestos han sido relacionados como una prevención de diversos padecimientos como enfermedades cardiovasculares, hipertensión, cáncer, diabetes, y osteoporosis. Así mismo las bebidas fermentadas son una gran fuente de probióticos, estos están relacionados con la prevención de problemas gastrointestinales, debido a que protegen al organismo frente a bacterias patógenas, mejorando las defensas y la respuesta inmunológica, a nivel celular y humoral, previniendo los procesos inflamatorios a nivel intestinal. (<https://www.ciad.mx/bebidas-fermentadas-mexicanas-beneficas-para-la-salud/>).



Aguamiel



Pulque

Figura 3. Bebidas prehispánicas producidas en México, provenientes de los agaves cultivados en México

1.9 Destilados de agave producción en México

El consumo de productos derivados del agave ha aumentado en los últimos años y por ello su demanda está creciendo rápidamente a nivel nacional e internacional, principalmente la de las bebidas destiladas, en alambiques ancestrales o de metal (Figura 4.). Esta demanda implica una mayor cantidad de oferta y tecnología moderna en los procesos productivos, disminuyendo así los métodos y la artesanía tradicionales. Dicho esto, es importante enfatizar que dependiendo de la especie de Agave y las condiciones locales de suelo, humedad y nutrientes, puede tomar entre siete, diez o 36 años o más (es decir, *A. tequilana*, *A. patatarum*, *A. seemanniana* , respectivamente) [4 , 28 , 29 , 30] para que alcancen la madurez de cosecha, por lo que si no se garantizan prácticas sostenibles y entornos adecuados para los individuos silvestres, el futuro de sus poblaciones podría estar en peligro.



Figura 4. Modelos de alambiques de metal para la destilación de fermentados en México.

El tequila es considerado la bebida más representativa de México, generador de empleo y divisas por sus ventas en el exterior. En 2016, Jalisco obtuvo \$1,600 millones de dólares en exportaciones de tequila al exterior creciendo a \$2,300 millones de dólares en 2020, mientras que la industria generó 100,000 empleos [16 , 17]. El tequila se obtiene del *Agave tequilana* o agave azul, el cual sólo puede cultivarse en regiones conocidas como Denominación de Origen del Tequila (DOT). Esto incluye los estados de Jalisco (126 municipios) con el 90% de la producción, Michoacán (30 municipios), Tamaulipas (11 municipios), Nayarit (ocho municipios) y Guanajuato (siete municipios) [18]. Desde *A. tequilana* no es común en la naturaleza, el tequila se obtiene enteramente de plantas cultivadas. Además, para evitar lo que se percibe como un desperdicio si se permite que las plantas florezcan, los campos de agave se replantan con plantas jóvenes de agave que son el resultado de la reproducción asexual de un subconjunto de las plantas originales en el campo, lo que resulta en una pérdida grave, de la diversidad genética generación tras generación [19]. Además, el tequila tiene los procesos de producción más industrializados de todas las bebidas destiladas originadas a partir del agave. El uso de autoclaves (ollas a presión alimentadas por vapor) para cocinar las cabezas de *A. tequilana* es el método más eficiente en la producción de Agave destilados, teniendo control de la relación presión-temperatura y su tiempo de cocción muy reducido en comparación con los métodos artesanales [2 , 20 , 21]. Sin embargo, este proceso tiene importantes costes para la calidad y las características organolépticas del producto final, ya que el uso de difusores para la extracción exhaustiva de los azúcares provoca la adición de otros metabolitos secundarios al mosto, el líquido sometido a destilación, reduciendo la calidad del producto final. [22].

El mezcal, a diferencia del tequila, se obtiene de más de 50 especies de agave que se encuentran principalmente en estado silvestre en México. En 2007, Colunga-García Marín afirmó que para la producción de esta bebida se utilizan al menos 56 taxones. Existe una amplia diversidad en la producción de mezcal, la cual se debe tanto a la diversidad de especies de agave utilizadas, como a la variedad de procesos de producción. Así, mientras la producción de tequila está estandarizada

e industrializada, la producción de mezcal generalmente es artesanal variando entre regiones por lo que su sabor, aroma, contenido alcohólico y calidad depende de la región de producción, la especie de agave utilizada y el fabricante de mezcal a cargo del mismo. [23]. Aunque la producción de mezcal es generalmente artesanal, también se utilizan procesos de producción industriales y los llamados “ancestrales”. Sin embargo, por lo general, el mezcal tradicional suele utilizar hornos de fosa o piscinas de mampostería para su fermentación, la molienda se realiza con tahona o molino chileno y la destilación se realiza en alambiques de cobre o vasijas de barro.

Bacanora es el mezcal local del estado de Sonora y se obtiene de una variedad de *A. angustifolia*, de la cual se deriva el mezcal espadín [24]. La variedad *A. angustifolia* var. *pacífica* se diferencia principalmente en el cultivo del agave ya que es un agave silvestre sin uso de fertilizantes ni pesticidas y su destilación reemplaza los alambiques de cobre por barriles de metal calentados con madera de mezquite. Actualmente, pocos productores se dedican a la producción y comercialización de bacanora [25 , 26].

La raicilla costera se obtiene de *A. rhodacantha* y *A. angustifolia*, mientras que la raicilla montañosa se adquiere de *A. maximiliana*. Este era un mezcal popular entre los mineros de las montañas de la Sierra Madre Occidental de Jalisco y su producción actualmente es artesanal solo localmente por alrededor de 70 productores en 2014 [2 , 27] .

1.10 Importancia social económica de la agroindustria del Agave

1.10.1 Auge industrial de los productos de agave

En el caso del mezcal, esta tradición en evolución y el aumento de la demanda ha obligado a algunos productores a incorporar nuevas tecnologías e infraestructuras para poder adaptarse a un mercado exigente y en rápido crecimiento, pero si se pierden las prácticas adecuadas de manejo de las poblaciones de agave, podría resultar en una reducción del tamaño de la población y de la variabilidad genética. Especies como *A. tequilana* para elaborar tequila o *A. fourcroydes* para fabricar henequén, utilizan la propagación clonal, donde se cultivan retoños del mismo genotipo y así se erosiona su diversidad genética generación tras generación. La pérdida de diversidad genética conlleva una reducción de su adaptabilidad a los cambios ambientales y climáticos, patógenos y plagas [2 , 23 , 30] ., 31 , 32 , 33].

Como ocurre con cualquier especie, la diversidad genética de las especies de Agave es crucial para asegurar sus procesos evolutivos y adaptarse a un entorno cambiante. La mayoría de las especies de Agave exhiben reproducción sexual y generalmente sufren polinización cruzada, lo que contribuye a una mayor diversidad genética en la naturaleza. Sin embargo, muchas especies también exhiben reproducción asexual, lo que también puede ser útil si hay pocos polinizadores disponibles, pero podría ser perjudicial para la diversidad genética en los cultivos de agave [23 , 30 , 31], como se puede observar estas condiciones biológicas han originado extensos territorios de siembra de especies, con las mismas características biológicas y genéticas, **Figura 5**.



Figura 5. Paisaje Agavero de Jalisco como Patrimonio Cultural de la Humanidad por parte de la **UNESCO**

1.10.2 Más allá de la producción de destilados

Más allá de la producción de fermentados y sus derivados alcohólicos que se destilan, se debe de explotar la producción moléculas bioactivas

Se recopiló de una base de datos actualizada de todas las especies de Agave encontradas en México y la analizamos con criterios específicos según sus parámetros biológicos para evaluar el estado de conservación y conocimiento de cada especie. Analizar el estado actual de todas las especies de Agave no solo proporciona información crucial para cada especie, sino que también ayuda a determinar cuáles requieren protección especial, especialmente aquellas que se utilizan o cultivan mucho para la producción de bebidas destiladas. Realizamos una extensa búsqueda de revisión de la literatura y compilamos el estado de conservación de cada especie utilizando los criterios principales de la UICN. Las lagunas de información en la base de datos indican una falta de conocimiento e investigación sobre Agave específico. Especie y valida la necesidad de realizar más estudios sobre este género. En total, se incluyeron en nuestro 2 de Agave, de las cuales 89 pertenecen al subgénero Agave y 79 al subgénero *Littaea*. *Agave lurida* y *A. nizamensis*, del subgénero Agave y *Littaea*, respectivamente, se encuentran en grave peligro de extinción, debido a su endemismo, falta de conocimiento sobre polinizadores y visitantes florales, y su estado de peligro según la Lista Roja de la UICN. Algunas especies están en riesgo debido a la pérdida de diversidad genética resultante de las prácticas de producción (por ejemplo, *Agave tequilana*), y otros debido a la sobreexplotación excesiva y desenfrenada de plantas silvestres, como *A. guadalajara*, *A. victoriae-reginae*, *A. kristenii* y otras. Dada la enorme importancia económica y ecológica de las plantas del género Agave, nuestra revisión será un hito para garantizar su futuro y la provisión continua de servicios ecosistémicos para los humanos, además de alentar más investigaciones sobre las especies de Agave en un esfuerzo por mejorar la conciencia sobre sus necesidades de conservación y uso sustentable, y la implementación de explotación sustentables.

1.11 Actividad biológica de los prebióticos

1.11.1 Prebióticos

Entre los abundantes ingredientes alimentarios disponibles, algunos péptidos y proteínas, en particular lípidos y **carbohidratos no digeribles**, son componentes de los prebióticos. Las estructuras químicas de estos componentes no se absorben en la parte superior del tracto gastrointestinal ni son hidrolizadas por las enzimas digestivas de los humanos. Por lo tanto, estos ingredientes se denominan alimentos para el colon. En los alimentos para el colon, **los carbohidratos no digeribles** se encuentran de forma natural y cumplen con todos los criterios de los prebióticos. Estos carbohidratos incluyen polisacáridos sin almidón, almidón resistente y oligosacáridos no digeribles. Sin embargo, no todos son prebióticos. Para ser clasificados como prebióticos, los carbohidratos deben cumplir los siguientes criterios:

- (a) son fibras dietéticas con un grado de polimerización (DP) entre tres y nueve, y
- (b) las enzimas endógenas producidas en el intestino delgado. No debería hidrolizarlos. Debe tenerse en cuenta que la fermentación y la solubilidad de la fibra generalmente no se reducen.

Los géneros bacterianos que promueven la salud, como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, proliferan mediante la administración de **prebióticos**, de modo que los metabolitos fermentados pueden ser absorbidos fácilmente por el intestino de los mamíferos y tener una influencia en la fisiología del huésped (**Figura 6**). Los prebióticos comparten varias características con la fibra dietética, que incluye la resistencia parcial o total a la digestión y fermentación por parte de los transgénicos.

A través de la asimilación característica y selectiva de los prebióticos mediante fermentación posterior, se produce una producción de AGCC en niveles elevados, que tienen efectos inmunomoduladores y metabólicos en el huésped. En este caso, también se observa una reducción en el pH intestinal, creando un ambiente que obstaculiza competitivamente el crecimiento de bacterias patógenas. Algunos

prebióticos previenen la adhesión de la microbiota patógeno al Tracto Gastro-Intestinal TGI imitando un sitio de unión intestinal.

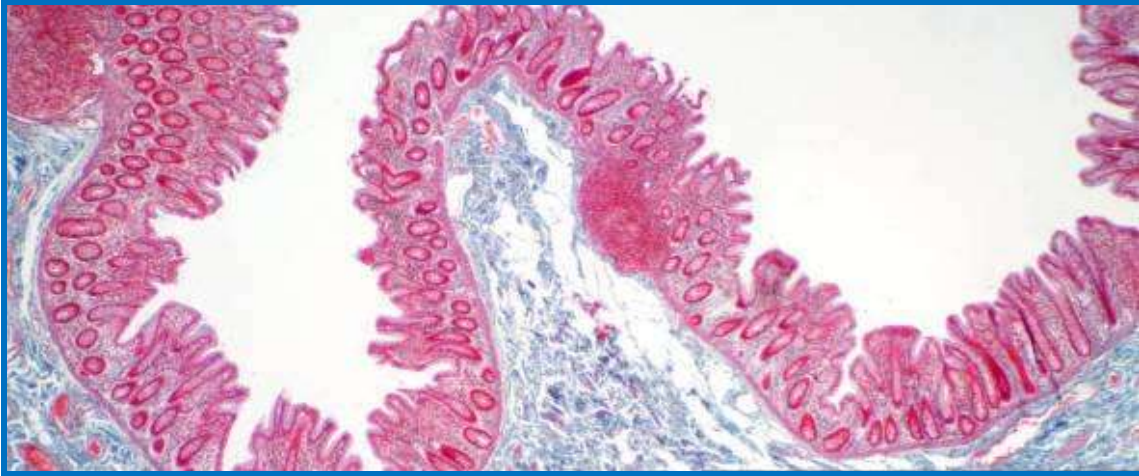


Figura 6. Corte histológico de la cresta del colon humano, corte de 30 micrometros, con tinción de eosin-hematoxilina.

1.11.2 Recomendaciones de consumo de los prebióticos

La aplicación de prebióticos es bien conocida en productos farmacéuticos y productos para personas con diabetes (como edulcorante natural). La gran cantidad de datos científicos sobre los prebióticos se ha centrado en compuestos asociados con dos grupos químicos principales: fructooligosacáridos y galactooligosacáridos (**Figura 7**). Pueden derivarse y/o extraerse de fuentes alimenticias como semillas, cereales integrales, legumbres, raíces de achicoria, alcachofas de Jerusalén, cebollas, ajo y algunas verduras, pero en un estudio reciente se descubrió que algunas plantas acuáticas (algas y microalgas) contienen prebióticos. Los prebióticos incluyen una variedad de formas como fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), oligosacáridos de la leche humana (HMO), lactulosa, lactosacarosa, inulina, almidones resistentes (RS), arabinoxilanos (AX), xilooligosacáridos (XOS) y pectina. El presente trabajo se han prestado más atención a los FOS como prebiótico para mejorar la salud humana, a través de los modelos biológicos.

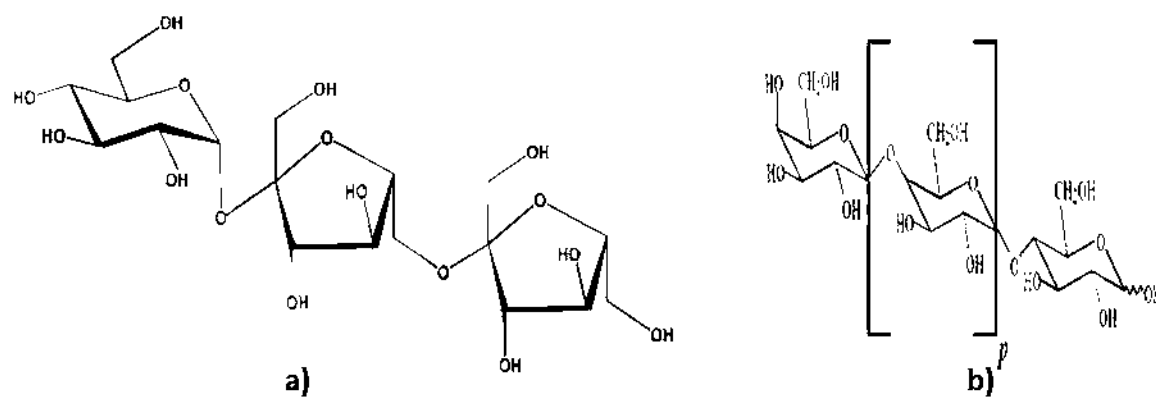


Figura 7. Estructura química de **a)** fructooligosacáridos y **b)** galactooligosacáridos

1.12. Diabetes Mellitus en la Actualidad

1.12.1 Resistencia a la insulina

La insulina es una hormona anabólica secretada por las células β del páncreas en respuesta a diversos estímulos, siendo la glucosa el más relevante. Su principal función es mantener la homeostasis glicémica y de otros sustratos energéticos. De esta forma, posterior a cada comida la insulina suprime la liberación de ácidos grasos libres mientras que favorece la síntesis de triglicéridos en el tejido adiposo. Por otra parte, la insulina inhibe la producción hepática de glucosa, mientras que promueve la captación de glucosa por el tejido muscular esquelético y adiposo. En un estado de RI, la acción de esta hormona a nivel celular está reducida, lo que aumenta la secreción de insulina. Esto permite compensar el defecto en la acción tisular y así mantener la homeostasis glicémica. Este fenómeno da cuenta del estado hiperinsulinémico, el cual es característico en sujetos con RI, particularmente después de una comida alta en carbohidratos.

2. Planteamiento del Problema

La diabetes y la obesidad son enfermedades metabólicas que se han convertido en condiciones alarmantes en las últimas décadas. Su tasa de aumento se está convirtiendo en una preocupación creciente en todo el mundo. Estudios recientes han establecido que la composición y disfunción del microbiota intestinal están asociadas con el desarrollo de diabetes. Por este motivo, se han popularizado estrategias como el uso de prebióticos para mejorar la estructura y función microbiana intestinal. El consumo de prebióticos para modular la microbiota intestinal da como resultado la producción de metabolitos microbianos, como los ácidos grasos de cadena corta, que desempeñan funciones esenciales en la reducción de los niveles de glucosa en sangre, la mitigación de la resistencia a la insulina, la reducción de la inflamación y la promoción de la secreción del péptido 1 similar al glucagón en el huésped, y esto explica la remisión observada de las enfermedades metabólicas. Los prebióticos pueden extraerse naturalmente de materiales de carbohidratos no digeribles o producirse sintéticamente. Se proporciona evidencia experimental que muestran la capacidad del consumo de prebióticos para alterar el perfil microbiano intestinal, mejorar el metabolismo y las funciones microbianas intestinales y mejorar la fisiología del huésped para aliviar la diabetes y la obesidad y la insulino-resistencia. Los prebióticos, tienen como origen al producto de los agaves, específicamente a la fracción de los carbohidratos, de tipo alfa-oligo-fructosacaridos, estos como una alternativa viable y sostenible, para la producción y elaboración de dietas tanto experimentales, como operativas clínicamente para proporcionarse a seres humanos para el tratamiento integral de la diabetes mellitus tipo II.

3. Problema a Resolver

El creciente interés en los alimentos funcionales ha impulsado el descubrimiento en el área de compuestos bioactivos. Los prebióticos son compuestos de carbohidratos no digeribles que, cuando se consumen, obtienen beneficios para la salud y ayudan en la prevención y el tratamiento de enfermedades crónicas. Si bien se ha demostrado que los prebióticos mejoran una serie de afecciones inflamatorias crónicas, existe cada vez más evidencia de los efectos de los prebióticos sobre el metabolismo de los carbohidratos y sus implicaciones en la salud humana, como por ejemplo la diabetes mellitus y el sobrepeso, las cuales tienen implicaciones en el fenómeno de la insulino-resistencia. Los mecanismos prebióticos actuales para mejorar la actividad antihiper glucemiante en la diabetes mellitus y la salud incluyen alteraciones en la composición del microbiota intestinal, producción de ácidos grasos de cadena corta, alteración del pH intestinal, modificación de biomarcadores y regulación del sistema inmunológico, así como carbohidratos con bajo índice glicémico. Si bien la mayoría de los datos disponibles apoyan una mejor biodisponibilidad de carbohidratos, la evidencia emergente sugiere funciones microbianas alternativas y la presencia de un intrincado eje de señalización intestino y el metabolismo de los carbohidratos a nivel hepático. En general, la literatura científica actual respalda el consumo de prebióticos como un enfoque rentable y sostenible para mejorar la salud del metabolismo de carbohidratos y/o la prevención de enfermedades como la diabetes mellitus tipo II.

4. Justificación

Los prebióticos son una clase de compuestos nutricionales categorizados juntos, no necesariamente por afinidad estructural, sino por el potencial de promover el crecimiento y/o la actividad de bacterias beneficiosas específicas (probióticos) en el transgénico. El concepto de prebióticos adquirió reconocimiento gracias a Glenn Gibson y Marcel Roberfroid en 1995. Un prebiótico se conoce como "un componente alimentario no digerible que influye beneficiosamente en el huésped al promover selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o un número restringido de bacterias en el colon, y así mejorar la salud del huésped". En 2004, los prebióticos se actualizaron para incluir cuatro criterios: (1) resistencia a la hidrólisis por enzimas de mamíferos, acidez gástrica y absorción gastrointestinal; (2) sólo deben ser fermentados mediante transgénicos; (3) inducir efectos sistémicos o luminales que sean beneficiosos para la salud del huésped; y (4) estimular selectivamente el crecimiento y la actividad de los transgénicos asociados con la salud y el bienestar. Los beneficios para la salud de los prebióticos son diversos e incluyen la modulación inmune a través del aumento de las interleucinas inmunorreguladoras y las inmunoglobulinas intestinales específicas; reducción de interleucinas proinflamatorias; y producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como acetato, propionato y butirato. Los AGCC son ácidos carboxílicos con colas alifáticas de uno a seis carbonos que los transgénicos producen mediante la fermentación anaeróbica de fibras dietéticas en el intestino. Los SCFA son un indicador importante de la fermentación bacteriana en el colon y se sabe que mejoran la salud intestinal al mantener la integridad de la barrera intestinal, la producción de moco, la protección contra la inflamación y la reducción del cáncer colorrectal y la obesidad, favorecida por la insulino-resistencia, por lo que es necesario, contar un mayor estudio referente a la obtención y efectos fisiológicos de los prebióticos, en enfermedades que se les considera problemas de salud público.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL.

Determinar el efecto insulinoresistencia de los alfa-oligofructosacaridos en la dieta AIN-93M en un modelo de hiperglicemico inducido farmacológicamente.

5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

5.2.1 Medir la concentración de triglicéridos en un modelo de hiperglicemico inducido farmacológicamente, al que se le administra alfa-oligofructosacaridos.

5.2.2 Establecer el efecto antihiperglicemiente por la administración de los alfa-oligofructosacaridos, en una dieta AIN-93M.

5.2.3. Medir la actividad de enzimas hepáticas, por el efecto de administración de los alfa-oligofructosacaridos, en una dieta AIN-93M.

6. Material y Métodos

Se utilizaron ratones machos adultos de la cepa Balb/C de 10 semanas de edad y un promedio de 20 gramos de peso; los cuales se sometieron a ciclos de luz y oscuridad de 12 horas, respectivamente, y se les administró de manera libre (*ad libitum*) agua y alimento estándar y modificado, tomando como base la dieta AIN-93M, la cual se modificó la dieta AIN-93M (**Tabla 3**), utilizando la siguiente formulación de proteína al 16%, almidones 38%, carbohidratos 38%, lípidos 4%, fibra 4%, para mantenimiento de animales adultos. Los cambios en la dieta AIN-93M, incluyeron la sustitución de almidón de maíz por α -oligofructosacaridos, provenientes de la especie de *Agave cupreta*, silvestre cultivado en el estado de Michoacán de Ocampo y región Bajío y aceite de soja por aceite de zarzamora y el aumento de la cantidad para suministrar ambos ácidos grasos esenciales (linoleico y linolénico). La inducción del estado hiperglicémico se realizó a través de la administración de estreptozocina (Sigma-Aldrich) en una sola dosis a una concentración de 175 mg/kg, via intraperitoneal (Deeds, 2011). Las determinaciones de bioquímicas se realizan por métodos enzimáticos específicos para glucosa y triglicéridos, para determinar posteriormente el índice de glucosa y triglicéridos, como indicador de resistencia a la insulina, todas las manipulaciones con modelos biológicos se realizaron, siguiendo la Norma Oficial Mexicana -NOM-062-ZOO1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Y el visto bueno de la Academia de Bioética y legislación del Programa de Biotecnología de la UMSNH.

Obtención de los α -oligofructosacaridos. Los azúcares de tipo α -oligofructosacaridos, se purificaron por métodos térmicos no destructivos, con procesos de temperatura de 80°C por un período de 8 horas por unidad de volumen de 1 litro (L), hasta evaporación del agua contenida en la savia proveniente de la especie *Agave crupreta*.

Tabla 3. Contenido de la dieta AIN-93M

COMPONENTE	DIETA CONTROL AIN-93M	DIETA MODIFICADA AIN-93M
PROTEÍNA (CASEINA)	200 g/Kg	200 g/Kg
ACEITE DE SOYA	70 g/Kg	70 g/Kg
FECULA DE MAIZ	530 g/Kg	530 g/Kg
SACAROSA	100 g/Kg *	100 g/Kg **
FIBRA	50 g/Kg	50 g/Kg
VITAMINA	10 g/Kg	10 g/Kg
		* sacarosa de SIGMA-ALDRICH
		** alfa-oligofructosacaridos proveniente de AGAVE

7. Resultados y Análisis

Se formaron tres grupos de experimentación, con una N=9, cada grupo, primer grupo control sin estado hiperglucémico y con acceso a la dieta estándar AIN-93/M, segundo grupo con estado hiperglucémico y con dieta AIN-93/M y tercer grupo, estado hiperglucémico con acceso a dieta AIN-93M modificada con α -oligofructosacaridos. El índice de glucosa y triglicéridos tiene como valores de referencias inferiores de 9.5. Donde el primer grupo (control), mostro un índice de glucosa/triglicéridos (G/T) promedio de 9.36 con una desviación estándar de ± 0.104 . El segundo grupo, hiperglúcemico con dieta AIN-93/M, normal, mostraron un promedio de 9.93 con una desviación estándar de ± 0.136 y el tercer grupo hiperglúcemico con acceso a la dieta AIN-93/M modificadas con α oligofructosacaridos, mostraron un índice promedio de 9.38 y una desviación estándar de ± 0.05 .

En lo referente a la insulina resistencia se tiene que comentar que el valor que se obtiene del Logaritmo Natural de la relación de Glucosa / Trigliceridos tiene un valor de 9, donde valores por arriba de 9 indican la insulino resistencia y valores por debajo de 9 indican una actividad antihiperglicemiantes, cabe mencionar que el tratamiento con los alfa-oligofructosacaridos, tiene este efecto de manera logarítmica, como se aprecia en la Tabla 4.

Tabla 4. Condensado de Resultados Bioquímicos

Tratamiento	Resistencia Insulina* Ln G/T	Colesterol¹ mg/dL	Triglicéridos² mg/dL	GGT³ UI/L	Glucosa⁴ mg/dL
Dieta Control	10.3779569	200.78 SD ±9.65801	175.64 SD ±5.50490	6.528 SD ±1.07368	273.1 SD±22.3738
Dieta Modificada	9.89003209	186.89 SD ±9.55085	167.23 SD	3.871 SD ± 0.62161	237.5 SD ±27.47625
Grupo Control Sin tratamiento	10.0309323	211.65 SD ± 10.2040	182.9 SD ±6.38783566	9.31 SD ±0.535682	353.3 SD ±35.7958

*Resistencia a insulina determinado por el Ln de Glucosa/Triglicéridos; 1. Colesterol Sérico; 2. Triglicéridos; 3. Gamma-Glutamil-transpeptidasa; 4. Glucosa Sérica

La gamma-glutamilttransferasa (GGT), un marcador de enfermedad hepática, se ha asociado fuertemente con resultados relacionados con la obesidad, incluida la diabetes. Además, los niveles séricos de GGT parecen estrechamente relacionados con la grasa hepática y se incluyen en los criterios diagnósticos del índice de hígado graso. La **Tabla 5** muestra que la actividad de la GGT aumentó tanto en suero como en hígado después de la prueba de 12 días con ratones inducidos con alfa-oligofructosacaridos. Aunque el tratamiento con produjo menos como efecto negativo, cabe mencionar que ninguno de los tratamientos aumentó la actividad de GGT a un rango superior a la actividad normal (0-50 U/l). No obstante, para ambos tejidos. Según el presente estudio varios estudios han demostrado una estrecha asociación entre GGT y resistencia a la insulina en el contexto de obesidad y diabetes; además, se ha informado que la GGT elevada está estrechamente relacionada se correlaciona con marcadores de inflamación sistémica, otro contribuyente importante a la aterosclerosis.

Tabla 5. Actividad de la Gamma-glutamyltranspeptidasa

Grupo Dosis (mg/kg)	ACTIVIDAD DE GGT (U/l)	
	Suero	Hígado
Control		
25	3.88 ± 0.14	3.87 ± 0.20
50	4.65 ± 0.26	5.06 ± 0.19
100	4.83 ± 0.30	4.18 ± 0.22
oligofructosacaridos		
25	4.96 ± 0.13	4.21 ± 0.15
50	6.24 ± 0.21	6.68 ± 0.14
100	6.90 ± 0.23	4.59 ± 0.20

8. DISCUSIÓN

Es difícil definir dosis clínicamente relevantes de alfa-oligofructosacaridos que se utilizarán en estudios con roedores, dado que se desconocen las concentraciones de estos biodisponibles a través del intestino y del hígado después de la ingestión oral. Sin embargo, según las concentraciones de los mismos en base a las concentraciones en la dieta AIN-93M logra una exposición hepática que permite replantear, el uso de carbohidratos como la sacarosa y la glucosa, frente a los oligofructosacardos, provenientes de los agaves del presente estudio y que presentan una estructura, como la descrita en **Figura 7**. Los efectos son suprafarmacológicos (metabólicos) y probablemente darán lugar a efectos no clínicamente relevantes de la actividad antihiperglicemiante, con un probable mecanismo de biodisponibilidad y competencia a nivel intestinal y tenga un efecto, inhibición sobre el metabolismo de la glucosa hepática.

9. CONCLUSIÓN

El presente trabajo, sienta las bases para el uso de diversos productos prebióticos (α -oligofructosacaridos) provenientes de las especies del género *Agave* spp. como herramienta de investigación básica en el área química y biológica con implicaciones en la salud humana, que permita ampliar las bases bibliográficas y científicas, sobre las aportaciones biológicas, del actual territorio Mexicano a la salud humana, desde un enfoque transdisciplinar y que ayude a conservar la amplia diversidad biológica de México.

10. Referencias Bibliográficas

1. Aguilar-Cristóbal N., Martínez J.L., Medina-Morales M.A., Nava-Cruz N.Y. Agave biotechnology: An overview. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2015;35:546–559. doi: 10.3109/07388551.2014.923813.
2. Álvarez-Duarte M.C., García-Moya E., Suárez-Espinosa J., Luna-Cavazos M., Rodríguez-Acosta M. Conocimiento tradicional, cultivo y aprovechamiento del maguey pulquero en los municipios de Puebla y Tlaxcala. *Polibotánica.* 2018;45:205–222. doi: 10.18387/polibotanica.45.15.
3. Álvarez-Ríos G., Pacheco-Torres F., Figueredo-Urbina C., Casas A. Management, Morphological and Genetic Diversity of Domesticated Agaves in Michoacán, Mexico. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 2020;16:2–17. doi: 10.1186/s13002-020-0353-9.
4. Arizaga S., Ezcurra E., Peters E., Arellano F., Vega E. Pollination Ecology of Agave macroacantha (Agavaceae) in a Mexican Tropical Desert. I. Floral Biology and Pollination Mechanisms. *Am. J. Bot.* 2000;87:1011–1017. doi: 10.2307/2657001.
5. Arzaba-Villalba C., Cházaro-Basáñez M., Viveros-Colorado C. Agave maria-patriciae (Polycephalae Group: Asparagaceae), a new species from Central Coastal Veracruz, Mexico. *Phytotaxa.* 2018;360:263–286. doi: 10.11646/phytotaxa.360.3.6.
6. Austin D. Baboquivari Mountain Plants: Identification, Ecology and Entomology. The University of Arizona Press; Tucson, AZ, USA: 2010.
7. Avendaño-Arrazate C.H., Iracheta-Donjuan L., Gódinez-Aguilar J.C., López-Gómez P., Barrios-Ayala A. Caracterización morfológica de Agave cupreata, especie endémica de México. *Phyton.* 2015;84:148–162. doi: 10.29312/remexca.v10i3.1554.
8. Bat Friendly: Tequila Interchange Project. Universidad Nacional Autónoma de México. [(accessed on 19 August 2021)]. Available online: <https://www.batfriendly.org/inicio/Diabetologia>, 28 (1985), pp. 528-546
9. Bautista-Justo M., García-Oropeza L., Barboza-Corona J.E., Parra-Negrete L.A. El Agave tequilana Weber y la Producción de Tequila. *Acta Univ.* 2001;11:26–34. doi: 10.15174/au.2001.301.

10. Burke R., Frey J., Ganguli A., Stoner K. Species distribution modeling supports “nectar corridor” hypothesis for migratory nectarivorous bats and conservation of tropical dry forests. *Divers. Distrib.* 2019;25:1399–1415. doi: 10.1111/ddi.12950.
11. Cabral I., Villarreal-Quintanilla J.A., Estrada E. *Agave albopilosa* (Agavaceae, subgénero *Littaea*, grupo *Striatae*), una especie nueva de la Sierra Madre Oriental en el noeste de Mexico. [(accessed on 12 November 2020)]; *Acta Bot. Mex.* 2007 80:51–57. doi: 10.21829/abm80.2007.1046. Available online: <https://www.redalyc.org/pdf/574/57408005.pdf>
12. Cabrera-Toledo D., Vargas-Ponce O., Ascencio-Ramírez S., Valadez-Sandoval L.M., Pérez-Alquicira J., Morales-Saavedra J., Huerta-Galván O.F. Morphological and Genetic Variation in Monocultures, Forestry Systems and Wild Populations of *Agave maximiliana* of Western Mexico: Implications for Its Conservation. *Front. Plant Sci.* 2020;11:817. doi: 10.3389/fpls.2020.00817.
13. Cámara Nacional de la Industria Tequilera (CNIT) Información Básica de la Industria Tequilera. 2021. [(accessed on 17 November 2021)]. Available online: <https://www.tequileros.org/wp-content/uploads/2019/12/estadisticas.pdf>
14. Castetter E.F., Harvey W., Russell A. The Early Utilization and Distribution of *Agave* in the American Southwest. University of New Mexico UNM Digital Repository. 1938. [(accessed on 17 April 2022)]. Available online: <https://www.gbif.org/es/occurrence/search?q=agave kewensis>
15. Ceja-Ramírez R., González-Eguiarte D.R., Ruiz-Corral J.A., Rendón-Salcido L.A., Flores-Garnica J.G. Detección de restricciones en la producción de *agave azul* (*Agave tequilana* Weber var. *azul*) mediante percepción remota. *Terra Latinoam.* 2017;35:259–268. doi: 10.28940/terra.v35i3.252.
16. Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria (CEDRSSA) Reporte: La Producción y el Comercio de Cerveza, Tequila y Mezcal en Mexico. Palacio Legislativo de San Lázaro, Ciudad de Mexico. 2019. [(accessed on 25 September 2021)]. pp. 3–5. Available online: http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/42producci%C3%B3n_comercio_mezcal_tequila_cerveza.pdf

17. Chavez-Angeles M., Pérez M., Vázquez L., Sánchez M., Pérez-García O., Hernandez O. David vs. Goliath: La conservación de los agaves pulqueros (*Agave atrovirens*, *salmiana* o *americana*), el combate a la pobreza y la competencia con la industria global de la cerveza en la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán; Proceedings of the Segundo Congreso Nacional Agave-Mezcal; Oaxaca, Mexico. September 2019.
18. Cházaro-Basáñez M., Valencia-Pelayo O., Lomelí-Sención J., Vargas-Rodriguez Y. *Agave vazquezgarciae* (Agavaceae), a New Species from Jalisco, Mexico. *Novon*. 2009;16:458–461. doi: 10.3417/1055-3177(2006)16[458:AVAANS]2.0.CO;2.
19. Cházaro-Basáñez M., Vázquez-García J. *Agave jimenoii* (Polycephalae group, Asparagaceae) a new species from the Totonacapan region, Veracruz, Mexico. *Phytotaxa*. 2013;134:55–60. doi: 10.11646/phytotaxa.134.1.5.
20. Cházaro-Basáñez M., Vázquez-García J., Vargas-Rodriguez Y. *Agave valenciana* (Agavaceae), A Gigantic New Species from Jalisco, Mexico. *Novon*. 2005;15:525–530.
21. Colunga-GarcíaMarín P. CONABIO. Base de Datos de Nombres Técnicos o de Uso Común en el Aprovechamiento de los Agaves en Mexico. Version 1.9. 2021. [(accessed on 21 November 2021)]. Available online: <https://www.gbif.org/dataset/d9bceb64-0334-43e8-868e-72d4cd506ca1>
22. Colunga-GarcíaMarín P., Torres-García I., Casas A., Figueredo C., Rangel-Landa S., Lemus A., Vargas-Ponce O., Toledo D., Zizumbo-Villarreal D., Aguirre-Dugua X., et al. Los agaves y las prácticas mesoamericanas de aprovechamiento, manejo y domesticación. *Domesticación Continente Americano*. 2017;11:273–308.
23. Colunga-GarcíaMarín P., Zizumbo-Villarreal D., Martínez-Torres J. Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: Una aportación a su protección legal y conservación biológica y cultural. In: Colunga-García Marín P., Eguiarte L., Largu A., Zizumbo-Villarreal S.y.D., editors. *En lo Ancestral Hay Futuro: Del Tequila, los Mezcales y Otros Agaves*. CICY-CONACYT-CONABIO-INE; Mérida, Mexico: 2007. pp. 229–248.
24. CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad) *Mezcales y Diversidad*. 2nd ed. CONABIO; Mexico City, Mexico: 2006.

25. Consejo Regulador de Mezcal 2020. [(accessed on 21 January 2021)]. Available online: <https://www.crm.org.mx/>
26. Crillo-Reyes P., Aviña R., Ramírez-Delgadillo R. *Agave rzedowskiana*, a new species in subgenus *Littaea* (Agavaceae) from western Mexico. *Brittonia*. 2003;55:240–244. doi: 10.1663/0007-196X(2003)055[0240:ARANSI]2.0.CO;2.
27. Cuevas Guzmán R., Santana-Michel F., Balcazar-Medina O. *Agave manantlanicola* (Agavaceae), a new species from western Mexico. *Brittonia*. 2012;64:330–335. doi: 10.1007/s12228-012-9240-6.
28. Eguiarte L.E., Aguirre-Planter E., Aguirre X., Colín R., González A., Rocha M., Scheinvar E., Trejo L., Souza V. From isozymes to genomics: Population genetics and conservation of *Agave* in Mexico. *Bot. Rev.* 2013;79:483–506. doi: 10.1007/s12229-013-9123-x.
29. Eguiarte L.E., González-González A. De genes y magueyes estudio y conservación de los recursos genéticos del tequila y el mezcal. [(accessed on 18 July 2020)]; *Rev. Cienc.* 2007 87 Available online: <http://rmiq.org/ojs311/index.php/rmiq/article/view/944>
30. Eguiarte L.E., Jiménez-Barrón O.A., Aguirre-Planter E., Scheinvar E., Gámez N., Gasca-Pineda J., Castellanos-Morales G., Moreno-Letelier A., Souza V. Evolutionary ecology of *Agave*: Distribution patterns, phylogeny, and coevolution (an homage to Howard S. Gentry) *Am. J. Bot.* 2021;108:216–235. doi: 10.1002/ajb2.1609.
31. Eguiarte L.E., Souza V., Silva-Montellano A. Evolución de la familia Agavaceae: Filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Boletín Sociedad Botánica Mexico*. 2000;66:131–150. doi: 10.17129/botsci.1618.
32. Enciclopedia CONABIO. [(accessed on 1 July 2020)]. Available online: <https://enciclopedia.mx/>
33. England A. Pollination Ecology of *Agave palmeri* in New Mexico, and Landscape Use of *Leptonycteris nivalis* in Relation to Agaves. 2012. [(accessed on 13 July 2020)]. Available online: https://digitalrepository.unm.edu/biol_etds/31
34. Félix-Valdez L.I., Vargas-Ponce O., Cabrera-Toledo D., Casas A., Cibrian-Jaramillo A., Cruz-Larios L. Effects of traditional management for mescal production on the

- diversity and genetic structure of *Agave potatorum* (Asparagaceae) in central Mexico. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2015;63:1255–1271. doi: 10.1007/s10722-015-0315-6.
35. Flores-Torres A., Galindo-Escamilla A. Pollination biology of *Agave horrida* (Agavaceae) in the Chichinautzin mountain range, Central Mexico. *Bot. Sci.* 2017;95:423–431. doi: 10.17129/botsci.1022.
 36. Galván-Villanueva R., Zamudio S. A new species of *Agave* subgenus *Littaea* (Agavaceae) of the state of Queretaro, Mexico. *Acta Bot. Mex.* 2013;105:1–10. doi: 10.21829/abm105.2013.228.
 37. García-Mendoza A. Revisión Taxonómica del complejo *Agave potatorum* Zucc. (Agavaceae): Nuevos Taxa y Neotipificación. *Acta Bot. Mex.* 2010;91:71–93. doi: 10.21829/abm91.2010.292.
 38. García-Mendoza A., Chávez-Rendón C. *Agave kavandivi* (Agavaceae: Grupo *Striatae*), una especie nueva de Oaxaca, Mexico. *Rev. Mex. Biodivers.* 2013;84:1070–1076. doi: 10.7550/rmb.35241.
 39. García-Mendoza A., Franco-Martínez S., Sardonval-Gutiérrez D. Cuatro especies nuevas de *Agave* (Asparagaceae, Agavoideae) del sur de Mexico. *Acta Bot. Mex.* 2019;126 doi: 10.21829/abm126.2019.1461.
 40. García-Mendoza A., Jacques-Hernandez C., Salazar-Bravo A. A new species of *Agave*, subgenus *Littaea* (Agavaceae) of Tamaulipas, Mexico. *J. Bot. Res. Inst. Texas.* 2007;1:79–84.
 41. García-Mendoza A., Nieto-Sotelo J., Sánchez-Teyer L., Tapia E., Gómez-Leyva J., Tamayo-Ordoñez M.C. AGARED—Red Temática Mexicana Aprovechamiento Integral Sustentable y Biotecnología de los Agaves. CONACYT, CIATEJ, AGARED; Guadalajara, Mexico: 2017. Panorama del Aprovechamiento de los Agaves en Mexico.
 42. García-Mendoza A., Sandoval D., Torres-García I., Casas A., González-Elizondo M. *Agave maximiliana*, Lechuguilla 2019. THE IUCN RED LIST OF THREATENED SPECIES™ [(accessed on 13 November 2020)]. Available online: www.iucnredlist.org

43. García-Mendoza A.J. Los Agaves de Mexico. *Rev. Cienc.* 2007;87:14–23. [Google Scholar]
44. García-Meza P., Mandujano-Bueno A., Paredes-Melesio R., Pons-Hernández J.L. Diversidad genética del maguey (*Agave* spp.) en las sierras y llanuras del norte de Guanajuato. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 2018;9:511–523. doi: 10.29312/remexca.v9i3.1212.
45. García-Morales L., García-Jiménez J., Iamónico D. *Agave lexi* (Asparagaceae: Agavoideae), a New Species from Mexico. *Novon.* 2019;27:201–204. doi: 10.3417/2019402.
46. Gentry H.S. *Agaves of Continental North America*. 3rd ed. University of Arizona Press; Tucson, AZ, USA: 2004.
47. Gil-Vega K., Chavira M.G., de la Vega O.M., Simpson J., Vandemark G. Analysis of genetic diversity in *Agave tequilana* var. azul using RAPD markers. *Euphytica*. 2001;119:335–341. doi: 10.1023/a:1017553107303.
48. Gonzalez-Elizondo M., Elizondo M., Enríquez I., Reséndiz-Rojas L., Retana F. The *Agave victoriae reginae* complex (Agavaceae) *Acta Bot. Mex.* 2011;95:65–94. doi: 10.21829/abm95.2011.268.
49. Gross S.M., Martin J.A., Simpson J., Abraham-Juarez M.J., Wang Z., Visel A. De novo transcriptome assembly of drought tolerant CAM plants, *Agave deserti* and *Agave tequilana*. *BMC Genom.* 2013;14:563. doi: 10.1186/1471-2164-14-563.
50. Gutiérrez-Coronado M.L., Acedo-Félix E., Valenzuela-Quintanar A.I. Industria del Bacanora y su Proceso de Elaboración. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 2007;5:394–404. doi: 10.1080/11358120709487718.
51. Hernández-Ramírez G., Herrera G. Allocation of endogenous nutrients for reproduction in the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris yerbabuenae*) in central Mexico. *J. Mammal.* 2016;97:23–31. doi: 10.1093/jmammal/gyv149.
52. Hernandez-Sandoval L., Magallan-Hernandez F. *Agave doctorensis* (Agavaceae), a new species from Sierra EL Doctor, Queretaro, Mexico. [(accessed on 8 August 2020)]; *Brittonia*. 2015 67:1–4. doi: 10.1007/s12228-014-9344-2. Available online: <http://www.jstor.org/stable/24694441>

53. Hernández-Vera G., Vázquez-García J., Padilla-Lepe J., Nieves-Hernández G. *Agave garciaruii* (Asparagaceae) a new species from the Chorros del Varal State Reserve in western Mexico. *Phytotaxa*. 2019;422:273–288. doi: 10.11646/phytotaxa.422.3.7.
54. Hodgson W., Salywon A., Doelle W. Hohokam Lost Crop Found: A New Agave (Agavaceae) Species Only Known from Large-scale pre-Columbian Agricultural Fields in Southern Arizona. *Syst. Bot.* 2018;43:734–740. doi: 10.1600/036364418X697445.
55. Illsley C., Vega E., Pisanty I., Tlacotempa A., García P., Morales P., Rivera G., García J., Jiménez V., Castro F., et al. En lo Ancestral Hay Futuro: Del Tequila, los Mezcales y Otros Agaves. Volume 1. CONACYT; Merida, Mexico: 2007. Maguey papalote: Hacia el manejo campesino sustentable de un recurso colectivo en el trópico seco de Guerrero, Mexico; pp. 319–340.
56. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, INEGI 2019. Conociendo la Industria del Tequila y Mezcal. [(accessed on 18 July 2021)]. Available online: <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/07/Conociendo-la-Industria-del-Tequila-y-el-Mezcal.pdf>
57. International Union for the Conservation of Nature The IUCN Red List of Threatened Species. 2020. [(accessed on 25 September 2020)]. Version 2020-2. Available online: <https://www.iucnredlist.org>
58. Juárez C. ¡A brindar con tequila y mezcal amigables con los murciélagos. Divulgación de la Ciencia UNAM. Universidad Nacional Autónoma de Mexico, Mexico. 2016. [(accessed on 7 September 2021)]. Available online: http://ciencia.unam.mx/leer/608/A_brindar_con_tequila_y_mezcal_amigables_con_los_murcielagos
59. Klimova A., Ruiz Mondragón K.Y., Molina Frenier F., Aguirre-Planter E., Eguiarte L.E. Genomic analyses of wild and cultivated bacanora agave (*Agave angustifolia* var. *pacifica*) reveal inbreeding, few signs of cultivation history and shallow population structure. *Plants*. 2022;11:1426. doi: 10.3390/plants11111426.
60. Laboratorio de Plantas Vasculares: Facultad de Ciencias UNAM. *Agave Celsii*. [(accessed on 11 January 2021)]. Available online:

http://biologia.fciencias.unam.mx/plantasvasculares/ArbolesArbustosFCiencias/Angiospermas/agave_celsii.html

61. Lachenmeier D., Sohnius E., Attig R., López M. Quantification of Selected Volatile Constituents and Anions in Mexican Agave Spirits (Tequila, Mezcal, Sotol, Bacanora) *J. Agric. Food Chem.* 2006;54:3911–3915. doi: 10.1021/jf060094h.
62. Le S., Josse J., Husson F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *J. Stat. Softw.* 2008;1–18. doi: 10.18637/jss.v025.i01.
63. Lemke T.O. Foraging Ecology of the Long-Nosed Bat, *Glossophaga Soricina*, with Respect to Resource Availability. *Ecol. Ecol. Soc. Am.* 1984;65:538–548. doi: 10.2307/1941416.
64. León-Vázquez N., Campos-Ángeles G., Enríquez-Del Valle J., Velasco-Velasco V., Marini-Zúñiga F., Rodríguez-Ortiz G. Diversidad de especies de agave en San Miguel Tilquiapam, Ocotlán, Oaxaca/Diversity of agave species from San Miguel Tilquiapam, Ocotlán, Oaxaca. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 2013;4:1185–1195.
65. Martínez E., Zamudio S. Una nueva especie de Agave del subgénero *Littaea* (Agavaceae) de la Sierra Madre Oriental, Mexico. *Acta Bot. Mex.* 1995;32:47–52. doi: 10.21829/abm32.1995.746.
66. Merlín J.D.G. Pulque, la Bebida de los Dioses al Alcance de Todos. 2017. [(accessed on 21 May 2021)]. Available online: https://www.redinnovagro.in/casosexito/2017/Maguey_Corporativo_San_Isidro.pdf
67. Monja-Mio K., Herrera-Alamillo M., Sánchez-Teyer L., Robert M. *Advances in Plant Breeding Strategies: Industrial and Food Crops*. Springer; Cham, Switzerland: 2019. Breeding Strategies to Improve Production of Agave (*Agave* spp.).
68. Mora-López L., Reyes-Agüero A., Flores-Flores J., Peña-Valdivia C., Aguirre-Rivera R. Variación morfológica y humanización de la sección *Salmianae* del género *Agave*. *Agrociencia*. 2011;45:1405–3195.
69. Moreno-Valdez A., Honeycutt R., Grant W. Colony Dynamics of *Leptonycteris nivalis* (Mexican Long-Nosed Bat) Related to Flowering Agave in Northern Mexico. *J. Mammal.* 2004;85:453–459. doi: 10.1644/1545-1542(2004)085<0453:CDOLNM>2.0.CO;2.

70. Naturalista. [(accessed on 1 July 2020)]. Available online: <https://www.naturalista.mx/>
71. Navarro del Toro G.J. El tequila para consumo nacional como una ventana de oportunidades para el pequeño productor agavero. *Rev. Iberoam. Contad. Econ. Adm.* 2021;10 doi: 10.23913/ricea.v10i19.159.
72. Navarro-Quezada A., González-Chauvet R., Molina-Freaner F., Eguiarte L. Genetic differentiation in the *Agave deserti* (Agavaceae) complex of the Sonoran desert. *Heredity*. 2003;90:220–227. doi: 10.1038/sj.hdy.6800216.
73. NOM-059-SEMARNAT-2010 Modificación del Anexo Normativo III, Lista de Especies en Riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección Ambiental-Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres-Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio-Lista de Especies en Riesgo, Publicada el 30 de Diciembre de 2010. Diario Oficial de la Federación 14 Noviembre. 2019. [(accessed on 18 September 2020)]. Available online: <https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-059-semarnat-2010>
74. Orci L., The insulin factory: a tour of the plant surroundings and a visit to the assembly line. The Minkowski lecture 1973 revisited.
75. Parker K., Hamrick J., Hodgson W., Trapnell D., Parker A., Kuzoff R. Genetic consequences of pre-Columbian cultivation for *Agave murpheyi* and *A. delamateri* (Agavaceae) *Am. J. Bot.* 2007;94:1479–1490. doi: 10.3732/ajb.94.9.1479.
76. Pereira B., Valente A., Paz J. A new steroidal saponin from *Agave shrevei*. *Nat. Prod. Res.* 2006;20:385–390. doi: 10.1080/14786410500045564.
77. Quiñones P., Rodríguez A., Negrete L. Extracción de fibras de agave para elaborar papel y artesanías. *Acta Univ.* 2010;20:77–83. doi: 10.15174/au.2010.63.
78. R Core Team . R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria: [(accessed on 11 July 2022)]. Available online: <https://www.R-project.org/>
79. Ramírez H., Peña C., Aguirre J., Reyes J., Sánchez A., Valle S. Seed germination temperatures of eight Mexican *Agave* species with economic importance. *Plant Species Biol.* 2012;27:124–137. doi: 10.1111/j.1442-1984.2011.00341.x.

80. Rivera-Lugo M., García-Mendoza A., Simpson J., Solano E., Gil-Vega K. Taxonomic implications of the morphological and genetic variation of cultivated and domesticated populations of the *Agave angustifolia* complex (Agavoideae, Asparagaceae) in Oaxaca, Mexico. *Plant Syst. Evol.* 2018;304:969–979. doi: 10.1007/s00606-018-1525-0.
81. Rodríguez R., Jiménez J.F., Del Real J.I., Salcedo E., Zamora J.F., Íñiguez G. Utilización de Subproductos de la Industria Tequilera. Parte 11. Compostaje de Bagazo de Agave Crudo y Biosólidos Provenientes de una Planta de Tratamiento de Vinazas Tequileras. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 2013;29:303–313.
82. Russell F., Wilson D. *Leptonycteris yerbabuenae*. *Mamm. Species.* 2006;797:1–7. doi: 10.1644/797.1.
83. Sánchez-González A., Octavio-Aguilar P., Barrientos-Lozano L., Meerow A.W. Effect of Elevation Strata on Morphological Variation of Two Agave Species with Different Niche Amplitude. *Int. J. Plant Sci.* 2019;180:892–901. doi: 10.1086/703577.
84. Sanchez-Urbina A., Ventura-Canseco L.M.C., Ayora-Talavera T., Abud-Archilla M., Peez-Farrera M.A., Dendooven L., Gutierrez-Miceli F.A. Seed Germination and in vitro Propagation of *Agave grijalvensis* an Endemic Endangered Mexican Species. *Asian J. Plant Sci.* 2008;7:752–756. doi: 10.3923/ajps.2008.752.756.
85. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial . Norma Oficial Mexicana NOM-070-SCFI-1994. Bebidas Alcohólicas-Mezcal-Especificaciones. Diario Oficial de la Federación; Mexico City, Mexico: 1997.
86. SEMARNAT Modificación del Anexo Normativo III, Lista de Especies en Riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección Ambiental-Especies Nativas de Mexico de Flora y Fauna Silvestres-Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio-Lista de Especies en Riesgo, Publicada el 30 de Diciembre de 2010. Diario Oficial de la Federación 14 Noviembre. 2019. [(accessed on 2 July 2020)]. Available online: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5578808&fecha=14/11/2019
87. Silva-Montellano A., Eguiarte L.E. Geographic patterns in the reproductive ecology of *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in the Chihuahuan desert. I. Floral characteristics, visitors, and fecundity. *Am. J. Bot.* 2003;90:377–387. doi: 10.3732/ajb.90.3.377.

88. Solís-García A., Rivas-García P., Escamilla-Alvarado C., Rico-Martínez R., Bravo-Sánchez M., Botello-Álvarez J. Methanol Production Kinetics during Agave Cooking for Mezcal Industry. [(accessed on 5 February 2021)]; *Revista Mexicana De Ingeniería Química*. 2017 16:827–834. Available online: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62053304012>
89. Starr G. A new Agave species (Asparagaceae, Agavoideae), from southern Oaxaca, Mexico. *Phytotaxa*. 2020;428:73–80. doi: 10.11646/phytotaxa.428.2.1.
90. Starr G., Davis T. Agave oteroi (Asparagaceae/Agavoideae) a new species from North-central Oaxaca, Mexico. *Cactus Succul. J.* 2019;91:134–143.
91. Starr G., Kemble B., Nixon R. Agave pelona and Agave zebra in the Sierra El Viejo. *Cactus Succul. J.* 2008;80:170–175. doi: 10.2985/0007-9367(2008)80[170:APAAZI]2.0.CO;2.
92. Teklu T. Characterization of Physico-chemical, Thermal, and Mechanical Properties of Ethiopian Sisal Fibers. *J. Nat. Fibers*. 2022;19:3825–3836. doi: 10.1080/15440478.2020.1848730.
93. Thiede J. A review of Agave ellemetiana K.Koch (Asparagaceae/Agavaceae) Bradleya. 2014;32:145–163. doi: 10.25223/brad.n32.2014.a7.
94. Thiede J. A review of Agave mitis (Asparagaceae/Agavaceae) Bradleya. 2016;34:200–216. doi: 10.25223/brad.n34.2016.a8.
95. Todo Mezcal 2012 Listado de Agaves por su Nombre Popular. [(accessed on 7 January 2021)]. Available online: <http://www.todomezcal.com/AgavesTec/AgavesListadoPopular.html>
96. Torres-García I., García-Mendoza A., Sandoval D. Agave guadalajarana, Masparillo THE IUCN RED LIST OF THREATENED SPECIES™ 2019. [(accessed on 9 July 2020)]. Available online: <https://www.iucnredlist.org/species/115629200/116353893>
97. Torres-García I., León A. Aspectos de la Fenología, Visitantes Florales y Polinización de Agave inaequidens Koch ssp. Inaequidens (Agavaceae) en el Estado de Michoacán. Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; Morelia, Mexico: 2012.

98. Trejo-Salazar R., Scheinvar E., Eguiarte L.E. ¿Quién poliniza realmente los agaves? Diversidad de visitantes florales en 3 especies de Agave (Agavoideae: Asparagaceae) Rev. Mex. Biodivers. 2015;86 doi: 10.1016/j.rmb.2015.04.007.
99. Trejo-Salazar R.E., Eguiarte-Frutos L.E., Suro-Piñera D., Medellín R.A. Save our bats, save our tequila: Industry and science join forces to help bats and agaves. Nat. Areas J. 2016;36:523–530. doi: 10.3375/043.036.0417.
100. Turner R., Bowers J., Burgess T. Sonoran Desert Plants: An Ecological Atlas. The University of Arizona Press; Tucson, AZ, USA: 1995.
101. Vázquez-García J., Muñiz-Castro M., Sahagún-Godínez E., Cházaro-Basáñez M., De Castro-Arce E., Nieves-Hernández G., Padilla-Lepe J. Four New Species of Agave (Agavaceae) of the Marmoratae Group. Syst. Bot. 2013;38:320–331. doi: 10.1600/036364413X666642.
102. Webb R. Gentry Revisited: The Agaves of Baja California, Mexico. Halsetonia. 2015;20:64–108. doi: 10.2985/026.020.0101.
103. Webb R., Starr G. The Real Agave gigantensis in Baja California Sur, Mexico. Cactus Succul. J. 2014;86:4–11. doi: 10.2985/015.086.0103.
104. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer; New York, NY, USA: 2016.
105. Zamudio S., Aguilar-Gutiérrez G. Dos especies nuevas de Asparagaceae (Agavoideae) de los estados de Guanajuato y Querétaro, Mexico. Brittonia. 2020;72:154–163. doi: 10.1007/s12228-020-09613-0.
106. Zizumbo-Villarreal D., Colunga-García P., Vargas-Ponce O., Rosales-Adame J., Nieto-Olivares R. Tecnología agrícola tradicional en la producción de vino mezcal (mezcal y tequila) en el sur de Jalisco, Mexico. Rev. Geogr. Agric. 2009;42:1–18.