



Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* autolysate as an elicitor on the total bioactive metabolites content and antibacterial activity of *Annona cherimola* leaf extracts

Efecto de un autolizado de *Saccharomyces cerevisiae* como elicitor sobre el contenido total de metabolitos bioactivos y la actividad antibacteriana de extractos foliares de *Annona cherimola*

María Fernanda Basilio-Grajales¹, Nayelli Ayatzol Vidal-Martínez¹ , Benito Hernández Castellanos¹ , Roberto G. Chiquito-Contreras² , Oscar Carmona-Hernández¹ , José Armando Lozada-García*¹ 

¹ Facultad de Biología, Universidad Veracruzana Circ. Gonzálo Aguirre Beltrán s/n, esq. Circ. Presidentes, Zona Universitaria, 91090, Xalapa-Enríquez, Veracruz.

² Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana, Circ. Gonzálo Aguirre Beltrán s/n, esq. Circ. Presidentes, Zona Universitaria, 91090, Xalapa-Enríquez, Veracruz.

*Corresponding author

E-mail address: alozada@uv.mx (J.A. Lozada-García)

Article history:

Received: 5 February 2026 / Received in revised form: 15 April 2026 / Accepted: 20 June 2026 / Published online: 29 June 2026.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2026.11.2.77-91>

ABSTRACT

It has been reported that *Annona* species have potential biological activity that could be modified by the stimulation of certain elicitors. For this reason, the effect of a *Saccharomyces cerevisiae* autolysate as a potential electrolite, its effect on the production of bioactive metabolites of *Annona cherimola*, and its antibacterial activity were evaluated. Five autolysate treatments were applied. Spraying four times per week in treatments with five individuals per treatment of *A. cherimola*. Leaves were collected to obtain ethanolic extracts, from which the following were quantified: phenols, flavonoids, alkaloids, total terpenes, and salicylic acid. The antibacterial activity was evaluated on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis*, and

Staphylococcus aureus. Bacterial sensitivity tests were performed using Mueller-Hinton agar. Five concentrations of the extracts were tested, and the minimum inhibitory concentration was determined. It was observed that yeast autolysis modified the production of bioactive metabolites in *Annona cherimola*, increasing the concentration of phenols, flavonoids, alkaloids, total terpenes, and salicylic acid. Finally, the application of the elicitor generated significant differences between the antibacterial activity of the extracts; some bacterial strains were sensitive.

Keywords: Cherimoya, pathogenic bacteria, stimulation.

RESUMEN

Se ha reportado que las especies de *Annona* presentan potencial actividad biológica que pudiera ser modificada gracias al estímulo de algunos elicitores. Por tal motivo, se evaluó el efecto de un autolizado de *Saccharomyces cerevisiae* como potencial elicitor, su efecto en la producción de metabolitos bioactivos de *Annona cherimola* y su actividad antibacteriana. Se aplicaron cinco tratamientos de autolizado. Realizando cuatro aspersiones por semana en tratamientos con 5 individuos por tratamiento de *A. cherimola*. Se colectaron hojas para obtener extractos etanólicos, de los cuales se cuantificaron: fenoles, flavonoides, alcaloides, terpenos totales, así como ácido salicílico. Se evaluó la actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. Las pruebas de sensibilidad bacteriana se realizaron con agar Müeller-Hinton. Se probaron cinco concentraciones de los extractos y se determinó la concentración mínima inhibitoria. Se observó que el autolizado de levadura modificó la producción de metabolitos bioactivos en *Annona cherimola* aumentando la concentración de fenoles, flavonoides, alcaloides, terpenos totales y ácido salicílico. Por último, la aplicación del elicitor generó diferencias significativas entre la actividad antibacteriana de los extractos, algunas cepas bacterianas fueron sensibles.

Palabras clave: Bacterias patógenas, chirimoya, estimulación.

1. Introducción

A lo largo de los años las plantas han desarrollado diferentes mecanismos frente al estrés generado por factores bióticos o abióticos, lo que ha propiciado la producción de metabolitos secundarios o metabolitos bioactivos (Suárez-Medina y Coy-Barrera, 2016). Estos compuestos generalmente no intervienen en el crecimiento y desarrollo primario de las plantas, pero si juegan un papel importante en la defensa, sobre todo con las interacciones bióticas (patógenos, herbívoros) y abióticas (sequía, UV, temperatura) (Twaij y Hasan, 2022). El valor de los metabolitos bioactivos en la actualidad radica en ser fuente de una vasta gama de fármacos, pesticidas y aditivos industriales, siendo su demanda un motor constante de investigación en fitoquímica y biotecnología (Elshafie *et al.*, 2023). En este contexto, el uso de elicitores surge como una alternativa tecnológica para estimular la producción de metabolitos secundarios (Fernández *et al.*, 2021; Lozada-García *et al.*, 2025).

Los elicitores se pueden clasificar en dos grupos: elicitores bióticos, derivados de organismos vivos (paredes celulares de hongos como el quitosano, fragmentos de péptidos microbianos), y elicitores abióticos, que incluyen factores de estrés no biológico (iones metálicos, estrés salino, radiación UV) (Caicedo-López *et al.*, 2021). El mecanismo de acción de los elicitores es la activación de una cascada de señalización mediada por segundos mensajeros (como el Ca^{2+} , especies reactivas de oxígeno o ROS, y la activación de proteínas cinasas), culminando finalmente con la expresión de genes específicos de defensa, asociados a rutas metabólicas como la del shikimato o del malonato, precursoras en su mayoría de metabolitos secundarios (Malook *et al.*, 2022, Villarreal-Ramírez *et al.*, 2026). El control de esta respuesta es crucial para estimular el crecimiento y la defensa, la cual que se asocia al ácido jasmónico (defensa contra insectos) y ácido salicílico a la resistencia sistémica adquirida contra patógenos (Jeyasri *et al.*, 2023, Ramos-Bell *et al.*, 2025).

La familia Annonaceae, ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales, es rica en compuestos bioactivos con potencial anticancerígeno, antiinflamatorio, antioxidante y antimicrobiano (Veras *et al.*, 2023). Esta familia incluye géneros como *Annona* (guanábana, chirimoya, anón), cuyas especies son valoradas tanto en la alimentación como en la medicina tradicional (Agustín y Ledesma, 2014). Dada su actividad biológica y el interés farmacéutico, la aplicación de elicitores en cultivos de anonáceas es una alternativa prometedora para modificar la producción de metabolitos de interés biotecnológico. Por esta razón, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de un autolizado de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la producción de metabolitos bioactivos de *Annona cherimola* y su actividad antibacteriana.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación de autolizado de *Saccharomyces cerevisiae*

Se tomaron en cuenta los protocolos de hidrólisis fúngica de Tanguler y Erten (2008) y de Becerra-Jiménez *et al.* (2011), los cuáles fueron modificados y adaptados. 100 g de levadura comercial se diluyeron en un litro de agua desionizada y la solución se mantuvo en incubación a 50 °C durante 24 horas. Se procedió a centrifugar a 10,000 g durante 15 minutos y se decantó el sobrenadante. El sedimento obtenido se colocó en moldes de silicón grado alimenticio y se llevó a sequedad total a 50 °C durante 8 horas y finalmente se pulverizó con ayuda de un molino eléctrico.

2.2. Zona de estudio

La plantación de estudio se ubica en una parcela cercana a la localidad de Tlalchy, Municipio de Ixhuacán de los Reyes, Veracruz, México (800 msnm). El tipo de suelo es Andosol lo que permite una vegetación dominante de bosque mesófilo de montaña, teniendo como especies predominantes *Platanus mexicana*, *Liquidambar styraciflua*, *Annona cherimola* y plantaciones forestales de *Pinus* sp; se presenta un clima templado húmedo (20 °C), una precipitación media anual de 2000 mm, lo que permite que la humedad del suelo se presente durante todo el año (INEGI, 2025).

2.3. Tratamientos y colecta de individuos

Se aplicaron cinco tratamientos de autolizado de *Saccharomyces cerevisiae* (0, 1, 3, 5 y 7 mg/mL) disueltos en agua desionizada. Para cada tratamiento se utilizaron cinco individuos de *Annona cherimola* (N total = 25). En total se efectuaron cuatro aspersiones, con una periodicidad de 7 días y un volumen de 500 mL por individuo. El estudio se realizó en los meses de abril – mayo de 2024.

2.4. Preparación de extractos alcohólicos

El material foliar de cada tratamiento se recolectó al termino de los tratamientos y se deshidrató a 50 °C; posteriormente, se trituró en un molino eléctrico hasta obtener un polvo fino. Para la extracción de metabolitos por maceración, se suspendieron 1.5 g del material vegetal seco en 10 mL de etanol al 96 %. La mezcla se mantuvo en agitación orbital a 250 rpm durante 24 horas y, a continuación, se centrifugó a 4000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se filtró y el residuo sólido se sometió a una segunda extracción bajo las mismas condiciones. Finalmente, los extractos reunidos se concentraron a presión reducida en rotavapor (Carmona *et al.*, 2014; Oroian *et al.*, 2020).

2.5. Cuantificación de metabolitos bioactivos en *Annona cherimola*

2.5.1. Fenoles totales

En un tubo de ensayo se adicionaron 1000 µL de extracto etanólico (con una concentración de 1 mg), 850 µL de agua desionizada, 100 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 50 µL de carbonato de sodio al 10 %. La mezcla se homogeneizó e incubó durante una hora en oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente, se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 760 nm. La concentración de fenoles totales se cuantificó mediante una curva de calibración de ácido tánico (10-50 µg/mL), y los resultados se expresaron en microgramos equivalentes de ácido tánico por miligramo de extracto etanólico (µg EAT/mg) (Palomino *et al.*, 2010; Fernández *et al.*, 2021).

2.5.2. Flavonoides totales

En tubos de ensayo se mezclaron 1 mL de extracto etanólico (1 mg/mL) y 1 mL de cloruro de aluminio al 2 %. La mezcla se incubó durante una hora en oscuridad a temperatura ambiente y, posteriormente, se midió la absorbancia a 420 nm. El contenido de flavonoides totales se determinó mediante una curva de calibración de quercetina (5-25 µg/mL) y los resultados se expresaron en microgramos equivalentes de quercetina por miligramo de extracto etanólico (µg EQ/mg) (Kumazawa *et al.*, 2004; Fernández *et al.*, 2021).

2.5.3. Alcaloides totales

Para la cuantificación de alcaloides totales, se preparó una solución de extracto etanólico a una concentración de 1 mg/mL en etanol al 60 %. En tubos de ensayo, se mezclaron 1 mL

de esta solución, 1000 µL de verde de bromocresol, 1000 µL de buffer de fosfatos (6.8 gNaH₂PO₄, 8.9 g Na₂HPO₄, pH 4.7) y 2000 µL de cloroformo. Las mezclas se agitaron vigorosamente durante 1 min y se dejaron reposar para permitir la separación de fases; posteriormente, la fase apolar (cloroformo) se transfirió a tubos de microcentrifuga. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 470 nm y la concentración se determinó mediante una curva de calibración. Los resultados se expresaron en microgramos equivalentes de piperidina por miligramo de extracto etanólico (µg EP/mg) (Shamsa *et al.*, 2008; Fernández *et al.*, 2021)

2.5.4. Terpenos totales

Para la cuantificación de terpenoides totales, se utilizaron tubos de ensayo en los que se mezclaron 100 mg extracto en 200 µL de metanol y 1500 µL de cloroformo. Los tubos se incubaron en un baño de hielo durante 5 min y, posteriormente, se les adicionaron 200 µL de ácido sulfúrico concentrado. Las mezclas se agitaron vigorosamente y se incubaron en oscuridad durante dos horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se tomó una alícuota de 150 µL de la fase inferior (fase clorofórmica/precipitado) y se diluyó en 1500 µL de metanol. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 538 nm y la concentración se determinó mediante una curva de calibración de linalool. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de linalool por miligramos de extracto (mg EL/mg) (Ghorai *et al.*, 2017; Fernández *et al.*, 2021).

2.5.5. Ácido salicílico

La cuantificación de ácido salicílico como hormona de estrés se determinó en un tubo de ensayo se adicionaron 1000 µL de extracto etanólico (a una concentración de 1 mg/mL), 50 µL de cloruro férrico al 0.1 % y 950 µL de agua desionizada. La mezcla se homogeneizó y, posteriormente, se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 540 nm. La concentración se determinó mediante una curva de calibración de ácido salicílico, y los resultados se expresaron en microgramos equivalentes de ácido salicílico por miligramo de extracto etanólico (µg EAS/mg) (Warrier *et al.*, 2013; Fernández *et al.*, 2021).

2.6. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de *Annona cherimola*

Se utilizaron 6 cepas bacterianas, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 15635, *Salmonella typhi* (aislado clínico), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25925, las cuales pertenecen al Laboratorio de Biotecnología y Productos Naturales, de la Universidad Veracruzana. El cultivo de cepas bacterianas se realizó utilizando agar nutritivo e incubándolas durante 24 h a 28 °C. Una vez obtenido el crecimiento de las bacterias, se inocularon en un tubo de ensayo con 5 mL de agua desionizada estéril con una turbidez de 0.5 en la escala McFarland. Posteriormente se colocaron 500 µL de los cultivos obtenidos en cajas de Petri con medio agar Mueller-Hinton (Sánchez *et al.*, 2011). La evaluación de la susceptibilidad bacteriana a los extractos etanólicos de *A. cherimola* se llevó a cabo mediante la técnica de difusión en agar por el método de Kirby-Bauer (Bernal y Guzmán, 1984). Para ello, se impregnaron sensidiscos con 50 µL de cada extracto a cinco concentraciones diferentes: 2, 3,

4, 5, 6 mg/mL Se utilizó etanol al 96 % como control negativo y el antibiótico rifaximina como control positivo. Los sensidiscos se distribuyeron de manera simétrica en las placas previamente inoculadas y, tras la incubación, el diámetro de la zona de inhibición se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Zona de inhibición(mm)} = \phi_{\text{total de la zona de inhibición(mm)}} - \phi \text{ del sensidisco (mm)}$$

Donde ϕ es el diámetro del halo.

2.7. Determinación de la concentración mínima inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria se determinó preparando suspensiones bacterianas con turbidez de 0.5 en la escala de Mcfarland. Posteriormente, se utilizó el método propuesto por Madigan *et al.* (2005) con las siguientes modificaciones: En tubos de ensayo se colocaron 4.95 mL de caldo nutritivo estéril al cual se le añadió 50 μ L de bacterias inoculadas en agua desionizada, además de 100 μ L de extracto con su respectiva concentración (2,3,4,5,6 mg/mL). Se incubaron por 24 horas a 28 °C, transcurrido el tiempo se leyeron en el espectrofotómetro a 600 nm. Para el control, se utilizó un tubo con caldo nutritivo más 50 μ L de bacteria, como control positivo uno con 2.5 μ L de antibiótico rifaximina, como control negativo 50 μ L de etanol al 96 % y un blanco con caldo nutritivo estéril, esto se realizó por triplicado con cada uno de los tratamientos. Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se utilizó la ecuación de Pérez-Pérez *et al.* (2020) para el cálculo del porcentaje de inhibición en los tubos de ensayo

$$CMI = \frac{\text{Absorbancia del control} - \text{Absorbancia del ensayo}}{\text{Absorbancia del control}} * 100$$

Donde CMI es concentración mínima inhibitoria

2.8. Análisis estadísticos

Para analizar los datos obtenidos de la cuantificación de metabolitos bioactivos, inhibición bacteriana y CMI, se realizó a cada uno un análisis de varianza unidireccional, además de una prueba Post-Hoc de Tukey para ver las diferencias de los tratamientos aplicados (Hernández-Sampieri *et al.*, 2014). El análisis de los datos se realizó en el programa Statistica 12 (StataCorp, 2011).

3. Resultados

3.1. Evaluación del efecto de autolizado de *S. cerevisiae* sobre la producción de metabolitos bioactivos de *Annona cherimola*

Se observó que el tratamiento con mayor concentración de fenoles totales se presentó con el tratamiento de 7 mg/mL con un total de 13.93 μ g EAT/mg. En cuanto a las demás concentraciones, el tratamiento de 1 mg/mL presentó 12.08 μ g EAT/mg, para 3 mg/mL se

obtuvo 12.85 µg EAT/mg (Tabla 2). La presencia de flavonoides totales en el tratamiento de 5 mg/mL se estimó en 31.33 µg EQ/mg, seguido del tratamiento testigo con 24.94 µg EQ/mg. Respecto a la producción de alcaloides el tratamiento de 3 mg/mL arrojó una concentración de 221.67 µg EP/mg. Para la cuantificación de terpenos, el tratamiento de 7 mg/mL se estimó una concentración total de 79.30 mg EL/mg, seguido del tratamiento de 5 mg/mL con una concentración final de 76.02 mg EL/mg (Tabla 1). En el caso de la cuantificación de ácido salicílico como una hormona de respuesta al estrés inducido en la planta, se observa que la concentración más alta aplicada del autolizado (7 mg/mL) presentó un total de 28.41 µg EAS/mg, seguida del tratamiento de 5 mg/mL con 26.73 µg EAS/mg.

Tabla 1. Concentración de metabolitos bioactivos totales y ácido salicílico de los diferentes extractos etanólicos

Table 1. Concentration of total bioactive metabolites and salicylic acid in the different ethanolic extracts

	Fenoles Totales (Ácido tánico) µg EAT/mg	Flavonoides totales (Quercetina) µg Eq/mg	Alcaloides totales (Piperidina) µg EP/mg	Terpenos totales (Limalool) mg EL/mg	Ácido salicílico µg/mg EAS/mg
Tratamiento	Concentración				
Testigo	12.94±0.44 a	24.94±7.93 a	129.99±12.22 a	51.62±6.78 a	22.50±5.70 a
1mg/mL	12.08±0.36 b	25.02±4.87 a	149.79±20.92 b	61.61±7.09 b	21.28±4.08 a
3mg/mL	12.85±0.23 a	24.40±3.47 a	221.67±25.09 c	66.63±7.46 c	23.80±4.89 a
5mg/mL	9.99±0.62 c	31.33±4.73 b	166.19±20.69 d	76.02±3.58 d	26.73±4.01 a
7mg/mL	13.93±0.29 d	26.50±4.76 a	296.33±14.35 e	79.30±6.20 c	28.41±4.40 b

Letras diferentes representan diferencias significativas entre la cantidad de autolizado aplicado.

3.2. Evaluación del autolizado de *S. cerevesiae* sobre la actividad antibacteriana de extractos alcohólicos de *A. cherimola*

Con base a los resultados obtenidos, la evaluación de la actividad antibacteriana se centró solamente en el extracto del tratamiento de 7 mg/mL seleccionado por su mayor producción de metabolitos; dicho tratamiento se contrastó con el testigo (0 mg/mL). El extracto de *A. cherimola* no presentó actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *E. faecalis* y *S. aureus*. Sin embargo, sí inhibió el crecimiento de *E. coli*. Para esta cepa, el extracto del tratamiento testigo mostró la mayor efectividad a una concentración de 6 mg/mL (19.66 % de inhibición), mientras que en el tratamiento de 7 mg/mL, la máxima inhibición se observó a los 5 mg/mL (8.10 %). En contraste, el control positivo registró un diámetro de inhibición promedio de 21.21 mm, considerado como el 100 % de inhibición.

En el caso de *P. fluorescens*, el extracto del tratamiento testigo (0 mg/mL) exhibió su mayor actividad a una concentración de 5 mg/mL, alcanzando un 17.57 % de inhibición. Por su

parte, para el extracto del tratamiento de 7 mg/mL, la concentración de 6 mg/mL resultó ser la más activa, con un 12.26 % de inhibición (Tabla 2).

Tabla 2. Sensibilidad bacteriana a los extractos etanólicos de *A. cherimola* con el autolizado de *S. cerevisia*

Table 2. Bacterial sensitivity to *A. cherimola* ethanolic extracts with *S. cerevisiae* autolysate

Bacteria	Porcentaje de inhibición %	Tratamiento y concentración de extracto utilizado									
		0mg/mL					7mg/mL				
		2mg/ mL	3mg/ mL	4mg/ mL	5mg/ mL	6mg/ mL	2mg/ mL	3mg/ mL	4mg/ mL	5mg/ mL	6mg/ mL
<i>E. coli</i>		8.52± 2.61a	9.66± 2.63a	10.78 ±6.92 a	17.71 ±8.48 a	19.66 ±10.4 5a	0	2.43± 3.92a	4.19± 1.27a	4.46± 1.45a	8.10± 2.88a
<i>P. aeruginosa</i>		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>P. fluorescens</i>		10.06 ±3.17 a	11.99 ±2.20 a	13.86 ±4.42 a	17.56 7±5.6 7 ^a	15.98 ±5.17 a	0.00	5.47± 1.04a	9.61± 1.76a	5.37± 3.13a	12.26 2.29a
<i>S. typhi</i>		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>E. faecalis</i>		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>S. aureus</i>		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

--: sin actividad. Letras diferentes representan diferencias significativas entre la cantidad de autolizado aplicado.

En relación con la concentración mínima inhibitoria (CMI), los extractos etanólicos mostraron actividad sobre *E. coli*, *P. fluorescens* y *S. aureus*. Al evaluar el efecto contra *E. coli* ATCC 25922 de los extractos provenientes de los tratamientos de *A. cherimola* (0 y 7 mg/mL de autolizado de *S. cerevisiae*), el control positivo registró un 80 % de inhibición frente al 68 % del control negativo. En los extractos, la mayor actividad para el tratamiento testigo (0 mg/mL) se observó a una concentración de 5 mg/mL (53.5 % de inhibición promedio), mientras que para el tratamiento de 7 mg/mL, la concentración más efectiva fue la de 4 mg/mL, alcanzando un 57.3 % (Tabla 3).

Respecto a *P. fluorescens*, los controles positivo y negativo alcanzaron un 95.5 % y 75 % de inhibición, respectivamente. En el tratamiento testigo, la concentración de 6 mg/mL fue la más activa (82.7 % de inhibición promedio), un comportamiento similar al del tratamiento de 7 mg/mL, donde la concentración de 6 mg/mL demostró un 84.0 % de inhibición.

Finalmente, en la CMI contra *S. aureus*, el control positivo mostró un 91 % de inhibición, mientras que el control negativo obtuvo un 0 %. Para el tratamiento testigo, la concentración de 4 mg/mL resultó la más activa, con un promedio del 83.8 %. En comparación, el tratamiento de 7 mg/mL presentó su mayor efectividad a una concentración de 6 mg/mL, logrando un 88.6 % de inhibición.

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria de extractos etanólicos de los tratamientos de 0 mg/mL y 7 mg/mL de autolizado de *Saccharomyces cerevisiae* frente a *E. coli*; *P. fluorescens*; *S. aureus*.

Table 3. Minimum inhibitory concentration of ethanolic extracts from treatments with 0 mg/mL and 7 mg/mL of *Saccharomyces cerevisiae* autolysate against *E. coli*, *P. fluorescens*, and *S. aureus*.

Bacteria	Tratamiento y concentración de extracto utilizado									
	0mg/mL					7mg/mL				
	2mg/ mL	3mg/ mL	4mg/ mL	5mg/ mL	6mg/ mL	2mg/ mL	3mg/ mL	4mg/ mL	5mg/ mL	6mg/ mL
<i>E. coli</i>	55.1 ±7. 34a	52.2± 8.49a	52.8± 11a	53.5± 9.89 ^a	43.1± 5.42a	36.8± 29.74 a	56.2± 5.63a	57.3± 28.33 a	49.52 ±2.77 a	40.2± 7.66a
<i>P. aeruginosa</i>	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>P. fluorescens</i>	81.2 ±1.9 2a	80.6± 2.94a	81.5± 3.91a	78.5± 2.71 ^a	82.±3. 74 a	72.2± 0.25a	83.5± 0.88a	84.2± 0.19a	83.6± 1.59a	84.0± 2.04a
<i>S. typhi</i>	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>E. faecalis</i>	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>S. aureus</i>	62.5 ±18. 16a	72.9± 15.06 a	83.8± 1.85a	82.1± 4.09 ^a	81.3± 4.97a	81.1± 5.07a	83.4± 1.50a	85.5± 1.11a	84.6± 3.34a	88.6 0.91a

--: sin actividad. Letras diferentes en la misma fila representan diferencias significativas (p<0.05) entre las concentraciones de autolizado aplicado.

4. Discusión

Fernández *et al.* (2021) reportan haber obtenido una concentración de fenoles totales de 12.6 µg EAT/mg mediante la aplicación de quitozano que actua como elicitor; no obstante, el tratamiento con autolizado de levadura superó este valor en un 110.5 %. Respecto a los flavonoides, se demostró que el quitosano indujo una concentración de 12.8 µg EQ/mg, lo que representó un incremento del 244.5 % en la acumulación total de estos compuestos. Para los alcaloides, obtuvieron una concentración de 84.5 µg EP/mg con quitosano, una cantidad que fue superada en un 350.65 % por el tratamiento con autolizado de levadura. Asimismo, registraron un contenido de terpenos totales de 16.3 mg EM/mg un valor superior en un 486 % al reportado en la presente investigación. Lozada-García *et al.* (2025) señalaron que las poblaciones de *Piper psilorrhachis* tratadas con quitosano incrementaron su concentración de flavonoides. Al igual que lo reportado por Antolínez-Pérez *et al.* (2025), quienes aplicaron de manera exógena de quitosano a 80 µM en plántulas de *A. cherimola* incrementando significativamente los flavonoides totales hasta 15.5 mg QE/g MS y los compuestos fenólicos a 23.5 mg GAE/g MS, lo anterior concuerda con lo reportado en este trabajo. Cabe mencionar que la actividad y síntesis de estos metabolitos bioactivos suele ser variable entre especies y género (Hasanuzzaman *et al.*, 2013; Jia *et al.*, 2015;

Niinemets, 2015). Particularmente, la funcionalidad y el grado de interacción de los elicitores con la producción de compuestos bioactivos dependen estrechamente de su síntesis (Liu *et al.*, 2017). A su vez estos afectan la actividad biológica de los extractos.

La actividad biológica del género *Annona* en diversos grupos de bacterias son conocidos, aunque su capacidad de inhibición varía. Esta fluctuación puede deberse a diferentes factores como a la polaridad del solvente y la concentración del extracto, así como en contenido de metabolitos bioactivos (Mathew *et al.*, 2016; De CC Pinto *et al.*, 2017; Hernández *et al.*, 2021; Shehata *et al.*, 2021). Es posible que los metabolitos bioactivos generados por *A. cherimola* posean características únicas y mecanismos de acción especializados como inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos, disrupciones en la membrana celular o del metabolismo energético, y que sean las responsables inhibir selectivamente a las bacterias que mostraron sensibilidad en este estudio (Maesaroh *et al.*, 2019).

Sin embargo, a diferencia de los hallazgos obtenidos, Hernández *et al.* (2021) quienes evaluaron extractos etanólicos de *A. muricata* sobre *S. aureus*, *S. B-hemolíticos* y *E. coli*, determinando que el extracto solo tuvo actividad contra *S. B-hemolíticos* y *Staphylococcus aureus*, con una CMI de 250 y 500 mg/mL, respectivamente, mientras que en *E. coli* no fue inhibida. Respecto a la actividad contra *P. fluorescens*, no existen referencias de su inhibición con extractos del género *Annona*. Sin embargo, Guo *et al.* (2021) estudiaron el efecto del linalool, un terpeno presente en *A. cherimola*, el cual mostró CMI en todas las concentraciones aplicadas a esta bacteria. En lo que concierne a *P. aeruginosa*, existen estudios donde se utilizan extractos hidroalcohólicos y etanólicos de diversas partes (hojas, madera, semillas y frutos) de especies de *Annona*, con concentraciones variables entre las investigaciones (Galvão *et al.*, 2016; Contreras-Martínez *et al.*, 2024).

Estudios realizados con en el género *Annona* utilizando diferentes solventes, han reportado actividad biológica contra *S. typhi*. En estos casos, la concentración mínima inhibitoria para esta bacteria es generalmente superior a los 6 mg/mL de extracto (Akinyemi *et al.*, 2005; Ngemenya *et al.*, 2022). Por lo tanto, es plausible que la polaridad del solvente y la cantidad de extracto utilizado en este trabajo hayan sido factores que afectaron su capacidad de inhibición en comparación con lo reportado y por lo tanto sea una oportunidad de estudio para futuras investigaciones.

5. Conclusión

El autolizado de *S. cerevisiae* modificó la producción de metabolitos bioactivos en *A. cherimola*. Aumentó la concentración de fenoles, flavonoides, alcaloides, terpenos y ácido salicílico, demostrando que tuvo un efecto elicitor en la planta. Respecto a la actividad antibacteriana, la aplicación de autolizado de levadura no demostró mayor inhibición significativa para *E. coli* y *P. fluorescens*. *P. aureginosa*, *S. typhi*, *E. faecalis* y *S. aureus*, no fueron sensibles a los extractos alcohólicos. Además, la concentración mínima inhibitoria necesaria entre los extractos alcohólicos para detener el crecimiento de *E. coli*, *P. fluorescens* y *S. aureus* no tuvieron diferencia significativa entre sí. Al no ser sensibles, se

recomienda probar otros tipos de extractos para identificar la antibacteriana para estos microorganismos.

Contribución de los autores

María Fernanda Basilio-Grajales: Investigación. **Nayelli Ayatzol Vidal-Martínez:** Reacción-borrador original. **Benito Hernández-Castellanos:** Redacción y edición. **Roberto G. Chiquito Contreras:** Redacción y edición. **Oscar Carmona-Hernández:** Supervisión, curación y análisis de datos. **José Armando Lozada-García:** Conceptualización y validación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Referencias

Agustín, J. A. and Ledesma, S.D.S. 2014. Conservación y uso de los recursos genéticos de Annonaceae en México. Rev. Bras. Frutic. 36, 118-124. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500014>

Akinyemi, K.O., Mendie, U.E., Smith, S.T., Oyefolu, A.O. and Coker, A.O. 2005. Screening of some medicinal plants used in South-West Nigerian traditional medicine for Anti-Salmonella Typhi Activity. J. Herb. Pharmacother. 5(1), 45–60. https://doi.org/10.1080/j157v05n01_06

Antolínez-Pérez, M.F., Fernández-Trujillo, J.P., Sequeda-Castañeda, L.G. and Pineros-Castro, Y. 2025. Induction of bioactive secondary metabolites in *Annona cherimola* Mill. (Chirimoya) seedlings using chitosan and salicylic acid as elicitors. Plant-Environ. Interact. 6(4), e70075. <https://doi.org/10.1002/pei3.70075>

Becerra-Jiménez, J., Valdivia-Urdiales, B., Aguilar, C., Martínez-Hernández, J., Contreras-Esquivel, J. and Lozano, C. 2011. Quitosán fúngico: fuentes y propiedades. Rev. Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila. 3(5).

Bernal, M. and Guzman, M. 1984. El antibiograma de discos, normalización de la técnica de Kirby-Bauer. Rev. Biomed. Bogotá, Colombia. (4),3-4. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v4i3-4.1891>

Caicedo-López, L.H., Aranda, A.L.V., Gómez, C.E.Z., Márquez, E.E. and Zepeda, H.R. 2021. Elicitors: implicaciones bioéticas para la agricultura y la salud humana. Rev. Bioética. 29, 76-86. <https://doi.org/10.1590/1983-80422021291448>

Carmona, H. O., Fernández, M. S., Palmeros-Sánchez, B. and Lozada-García, J. 2014. Actividad insecticida de extractos etanólicos foliares de nueve piperáceas (*Piper L.*) en *Drosophila melanogaster*. RICA 30, 67–73.

Contreras-Martínez, O. I., Sierra-Quiroz, D. and Angulo-Ortiz, A. 2024. Antibacterial and Antibiofilm Potential of Ethanolic Extracts of *Duguetia vallicola* (Annonaceae) against in-Hospital Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Plants. 13(10), 1412. <https://doi.org/10.3390/plants13101412>

De CC Pinto, N., Campos, L.M., Evangelista, A.C.S., Lemos, A.S., Silva, T.P., Melo, R.C., De Lourenço, C.C., Salvador, M.J., Apolônio, A.C.M., Scio, E. and Fabri, R.L. 2017. Antimicrobial *Annona muricata* L. (sour sop) extract targets the cell membranes of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Ind. Crop. Prod. 107, 332–340. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.054>

Elshafie, H.S., Camele, I. and Mohamed, A.A. 2023. A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. Int. J. Mol. Sci., 24(4), 3266. <https://doi.org/10.3390/ijms24043266>

Fernández, M., Hernández-Ochoa, F., Carmona-Hernández, O., Luna-Rodríguez, M., Barrientos-Salcedo, C., Asselin, H. and Lozada-García, J. 2021. Producción de metabolitos secundarios inducida por quitosano en extractos vegetales de *Piper auritum* y actividad fungicida in vitro sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. Rev. Mex. Fitopatol. 39(1), 198-206. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2006-6>

Galvão, S., De S Monteiro, A., Siqueira, E.P., Bomfim, M.R.Q., Dias-Souza, M.V., Ferreira, G.F., Denadai, A.M.L., Santos, Á.R.C., Santos, V.L.D., De Souza-Fagundes, E.M., Fernandes, E.S. and Monteiro-Neto, V. 2016. *Annona glabra* flavonoids act as antimicrobials by binding to *Pseudomonas aeruginosa* Cell Walls. Front. Microbiol. 07. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02053>

Ghorai N., Chakraborty S., Gucchait S, Kumar S. and Biswas S. 2017. Estimation of Total Terpenoids concentration in plant tissues using a monoterpene, Linalool as standard reagent. Protoc. Exch. <https://doi.org/10.1038/protex.2012.055>

Guo, F., Chen, Q., Liang, Q., Zhang, M., Chen, W., Chen, H., Yun, Y., Zhong, Q. and Chen, W. 2021. Antimicrobial activity and proposed action mechanism of Linalool against *Pseudomonas fluorescens*. Front Microbiol. 28(12), 562094 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.562094>

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S. S. and Fujita, M. 2013. Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance, 209-250. <https://doi.org/10.1002/9783527675265.ch09>

Hernández, C.L.C., Senmache, J.G.A., Cruz-López, C.Y.S., Solano, F.a.C. and Mantilla, M.M. 2021. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Annona muricata* sobre

microorganismos de importancia clínica. Gac. Med. Bol. 44(1),29-33. <https://doi.org/10.47993/gmb.v44i1.219>

Hernández-Sampieri, R., Fernández-Collado, C. and Bautista-Lucio, M. P. 2014. Análisis de datos cuantitativos. En Metodología de la investigación (sexta edición). McGRAW-HILL. 270-335.

INEGI. 2025. Mapa digital de México. <https://www.inegi.org.mx/temas/mapadigital/>. Fecha de consulta: 12 de Septiembre de 2025.

Jeyasri, R., Muthuramalingam, P., Karthick, K., Shin, H., Choi, S. H. and Ramesh, M. 2023. Methyl jasmonate and salicylic acid as powerful elicitors for enhancing the production of secondary metabolites in medicinal plants: an updated review. PCTOC, 153(3), 447-458. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02485-8>

Jia, X., Sun, C., Li, G., Li, G. and Chen, G. 2015. Effects of progressive drought stress on the physiology, antioxidative enzymes and secondary metabolites of Radix Astragali. Acta Physiol. Plant. 37(262). <https://doi.org/10.1007/s11738-015-2015-4>

Kumazawa, S., Hamasaka and Nakayama T. 2004. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. Food. Chem. 84(3),329-339. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00216-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00216-4)

Lozada-García, J. A., Hernández-Suárez, R., Barrientos-Salcedo, C., Cruz-Elizondo, Y., Vázquez-Martínez, J. and Carmona-Hernández, O. 2025. Inducción de metabolitos bioactivos en *Piper psilorrhachis* C.DC. (Piperaceae) y actividad antibacteriana por quitosano. Ecosis. Recur. Agropec. 12(2),4542. <https://doi.org/10.19136/era.a12n2.4542>

Liu, J., Meng, C., Liu, S., Kan, J. and Jin, C. 2017. Preparation and characterization of protocatechuic acid grafted chitosan films with antioxidant activity. Food Hydrocoll. 63:457-466. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.035>

Madigan, M., Martinko J. Brock. 2005. Biology of Microorganisms. 11th ed. Prentice Hall.

Malook, S. U, Maqbool, S., Hafeez, M., Karunarathna, S.C. and Suwannarach, N. 2022. Molecular and biochemical mechanisms of elicitors in pest resistance. Life 12:844. <https://doi.org/10.3390/life12060844>

Maesaroh, U., Martien, R., Dono, N. D. and Zuprizal, N. 2019. Antibacterial activity and characterization of Annona muricata Linn leaf extract-nanoparticles against *Escherichia coli* FNCC-0091 and *Salmonella typhimurium* FNCC-0050. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 387(1), 012055. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/387/1/012055>

Mathew, J., George, R., Theruvil, R., Padavil, T.C., Tomy, L. and Kurian, A. 2016. Actividad antibacteriana del extracto de hojas de *Annona muricata* y *Simarouba glauca* sobre *Enterococcus faecalis*. J. Contemp. Dent. Pract. 17:(8),650-653. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1906>

- Ngemenya, M.N., Asongana, R., Zofou, D., Ndip, R.A., Itoe, L.O. and Babiaka, S.B. 2022. *In vitro* antibacterial potential against multidrug-resistant *Salmonella*, cytotoxicity, and acute biochemical effects in mice of *Annona muricata* Leaf Extracts. Evid Based Complement Alternat Med. 1–7. <https://doi.org/10.1155/2022/3144684>
- Niinemets, Ü. 2015. Uncovering the hidden facets of drought stress: secondary metabolites make the difference. Tree Physiol. 36:(2), 129-132. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv128>
- Oroian, M., Dranca, F. and Ursachi, F. 2020. Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis. JFST, 57(1), 70–78. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04031-x>
- Palomino L., Martínez J., García C., Gil J. and Durango D. 2010. Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleo en el Municipio de La Unión (Antioquia, Colombia). Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín, 63(1): 5373-5383.
- Pérez-Pérez, J.U., Guerra-Ramírez, D., Reyes-Trejo, B., Cuevas-Sánchez, J.A. and Guerra-Ramírez, P. 2020. Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de *Jatropha dioica* Seseé contra bacterias fitopatógenas de tomate. Polibotánica. (49), 125-133. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.49.8>
- Ramos-Bell, S., Herrera-González, J.A., Hernández-Montiel, L.G., and Gutiérrez-Martínez, P. 2025. Evaluating *Debaryomyces hansenii* in combination with chitosan or salicylic acid for the control of *Botrytis cinerea* in blueberry. Mex. J. Biotechnol. 10(2), 105–114. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2025.10.2.105-114>
- Sánchez, Y., Pino, O., Lazo, F.J., Abreu, Y., Iglesia, A. and Naranjo, E. 2011. Actividad promisorio de aceites esenciales de especies pertenecientes a la tribu Pipereae frente a *Artemia salina* y *Xanthomonas albilineans*. Revista Protección Veg. 26(1): 45-51.
- Shamsa F., Monsef R., Verdian M. 2008. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. TJPS, 32, 17-20.
- Shehata, M.G., Abu-Serie, M.M., El-Aziz, N.M.A. and El-Sohaimy, S. A. 2021. Nutritional, phytochemical, and *in vitro* anticancer potential of sugar apple (*Annona squamosa*) fruits. Sci. Rep. 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85772-8>
- Suárez-Medina, K. and Coy-Barrera, E. 2016. Diversidad de los compuestos orgánicos bioactivos de origen natural: una singularidad manifestada por la plasticidad en el metabolismo secundario. Revista Facultad de Ciencias Básicas, 12(2), 252-269.
- Tanguler, H. Erten, H. 2008. Utilisation of spent brewer's yeast for yeast extract production by autolysis: The effect of temperature. Food Bioprod. Process. 86:(4)317-321. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2007.10.015>

Twaij, B. M., Hasan, M. N. 2022. Bioactive secondary metabolites from plant sources: types, synthesis, and their therapeutic uses. *Int. J. Plant Biol.*, 13(1), 4-14. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>

Veras, V.L.S., Furtado, P.V.O.S., da Silva Costa, P., Rai, M., Feitosa, C.M. and Sousa, J.M. D.C. 2023. Annonaceae Family: Characteristics, Properties and Applications. In *Bioprospection of Co-products and Agro-industrial Wastes*. (pp. 184–200). CRC Press.

Villarreal Ramírez, K., Ayala-Zermeño, M.A., Antuna-Grijalva, O., Berlanga-Padilla, A.M., Balagurusamy, N., Hernández-Beltrán, J.U. and Luévanos-Escareño, M.P. 2026. Hongos entomopatógenos: mecanismos de colonización endófitas en plantas y roles funcionales. *Mex. J. Biotechnol.* 11(2), 1–47. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2026.11.2.1-47>

Warrier R., Paul M., Vineetha M. 2013. Estimation of salicylic acid in *Eucalyptus* leaves using spectrophotometric methods. *Genet. Plant Physiol.* 3(1), 90-97.