



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN LAS ESPECIES  
MACRÓFITAS *Eichhornia crassipes* Y *Lemna gibba* FRENTE A  
BACTERIAS Y HONGOS PATÓGENOS DE IMPORTANCIA EN SALUD  
VEGETAL

IVONNE NATHALY HURTADO TRIANA  
NELSON FABIAN MUÑOZ SUESCUN

**Msc. LIGIA CONSUELO  
SÁNCHEZ LEAL**

Asesora

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD PROGRAMA  
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO  
INFORME FINAL  
BOGOTÁ – 2019-I



Agricultura como principal actividad económica en Colombia.

Grandes pérdidas económicas a causa de microorganismos fitopatógenos.

Enfermedades, acción directa en el mercado

Uso de productos agroquímicos y la contaminación inciden en el deterioro de ecosistemas .



*Lemna gibba*



*Eichhornia crassipes*



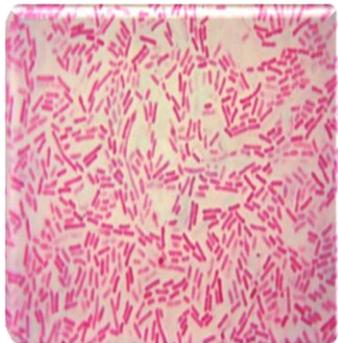


*Xanthomonas* sp.  
Tizón bacteriano

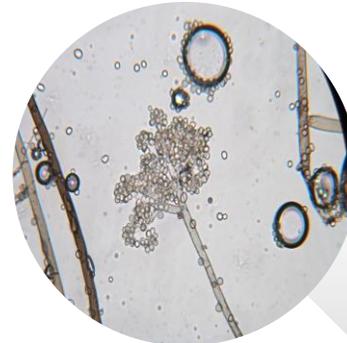


*Fusarium*  
sp

*Ralstonia* sp.  
El moko



*Lelliottia* sp.  
Madera húmeda



*Botrytis* sp



## OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antimicrobiana de las plantas macrófitas *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* frente a bacterias y hongos patógenos de plantas.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

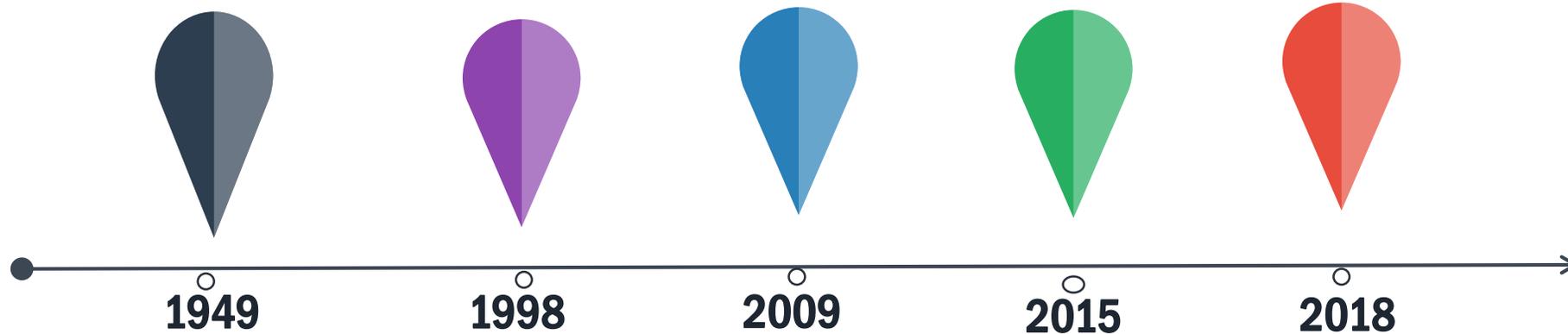
Obtener extractos a partir de las plantas macrófitas *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*.

Establecer la actividad antimicrobiana del extracto frente a patógenos seleccionados para el estudio

Comparar la efectividad de los extractos obtenidos de las dos plantas *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*

# ANTECEDENTES

ANTECEDENTES



## Grupo medico de Oxford

Publicación “Antibiotics”, algunas plantas con potencial antimicrobiano.

## Carvalho

Relación entre uso de productos químicos, y la contaminación ambiental.

## Effiong

los extractos etanólicos de Lenteja de agua tienen una mayor inhibición fungicida que el extracto acuoso

## Valderrama, Et al

la remoción de indicadores de contaminación fecal en aguas residuales domésticas por parte de *Eichhornia crassipes*, y *Lemna sp.*

## Cruz d, Caviedes a

Los extractos de *Lemna gibba* y *Eichhornia crassipes* evaluados presentaron cierto grado de actividad antimicrobiana

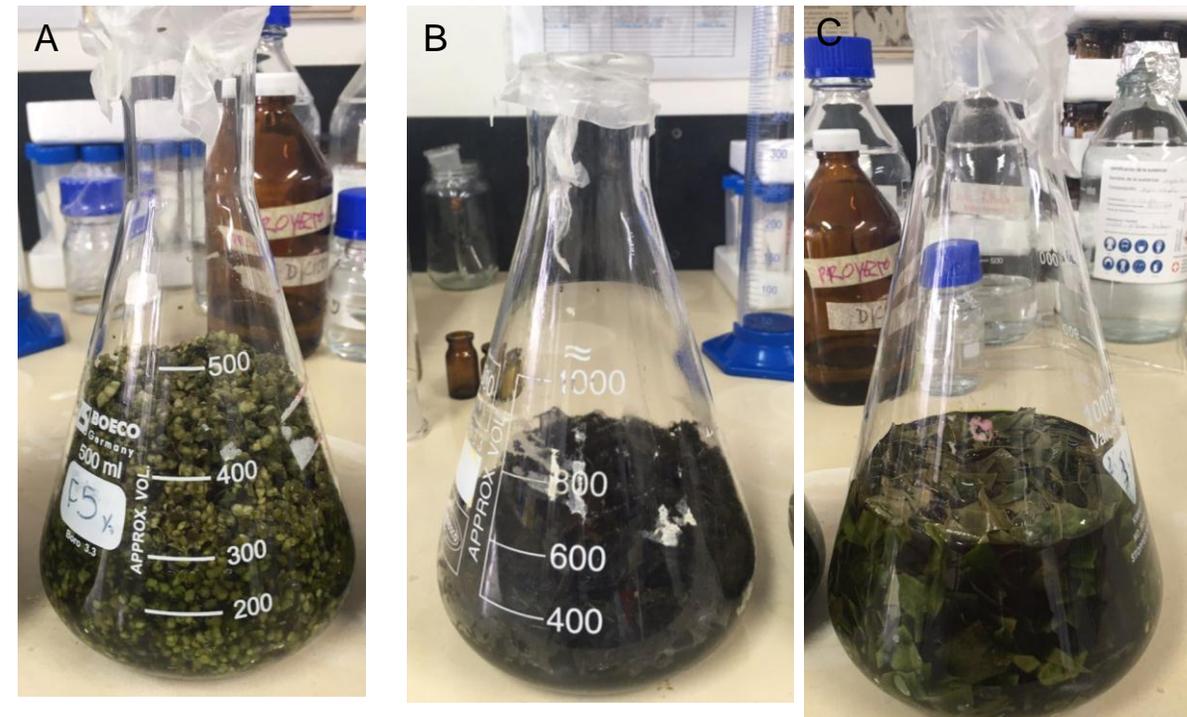


## FASE 1: RECOLECCION Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL.



A) recolección,  
B) lavado, C) separación y  
D) secado del material  
vegetal.

## FASE 2: OBTENCION DE LOS EXTRACTOS.



Corte del material vegetal en trozos pequeños. Peso y adición del solvente (diclometano) 24 horas. A) Lenteja de agua, B) Raíz buchón de agua C) hoja buchón de agua

Fuente: Autores 2018.

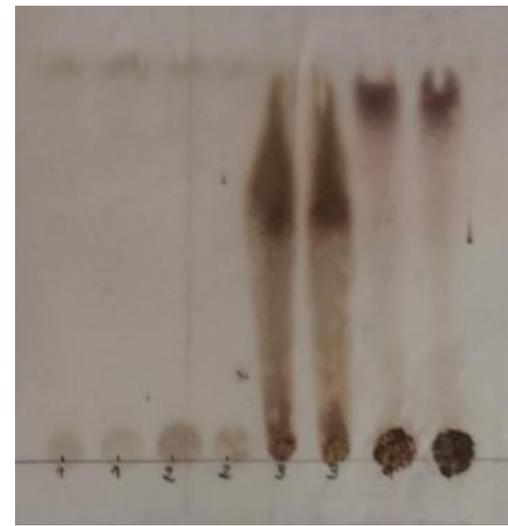


## FASE 2: OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.



- A. Filtrado de los extractos y preparación de los mismos para el proceso de rotaevaporación.
- B. Proceso de rotaevaporación
- C. Almacenamiento de los extractos puros en frascos ámbar.

Fuente: Autores 2018.



Se realizó una cromatografía en capa fina con dos solventes diferentes, con el fin de identificar la polaridad de los extractos obtenidos

## FASE 3: OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS.

*Fusarium* sp.  
*Ralstonia* sp.  
*Botrytis* sp.

Centro de Biosistemas de la  
Universidad Jorge Tadeo  
Lozano

*Botrytis* sp  
*Xanthomonas* sp.  
*Lelliottia* sp

CEPARIUM de la Universidad  
Colegio Mayor de  
Cundinamarca.

Todas las cepas fueron aisladas de procesos patógenos sistémicos o superficiales de plantas.



**FASE 4: MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.**  
**Difusión en agar / Concentración mínima inhibitoria**



*Klebsiella pneumoniae* ATCC 1705

*Klebsiella pneumoniae* ATCC 1706.

29°C durante 48 horas.

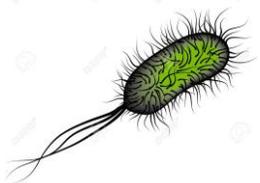
*Aspergillus brasiliensis*. ATCC 16404 ,

*Candida albicans*. ATCC 10231

T° ambiente durante 7 días



20 µg/µl      40 µg/µl .



**1X10<sup>8</sup> UFC/ mL .**



**1X10<sup>6</sup> conidios/mL**

Como control negativo se utilizaron sensidiscos impregnados con la misma cantidad del solvente utilizado para reconstituir los extractos (Acetato de etilo).

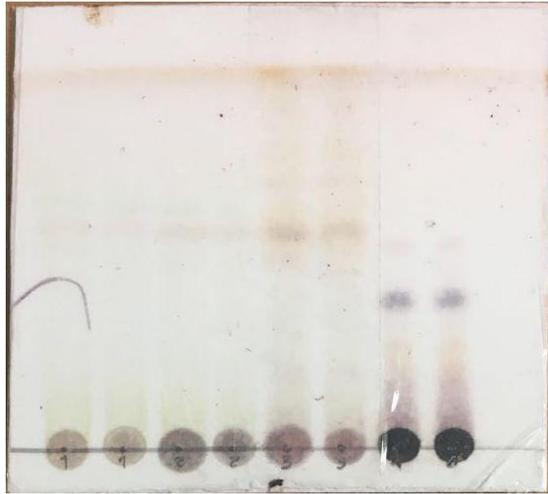


## PESO DE MATERIAL VEGETAL Y DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS

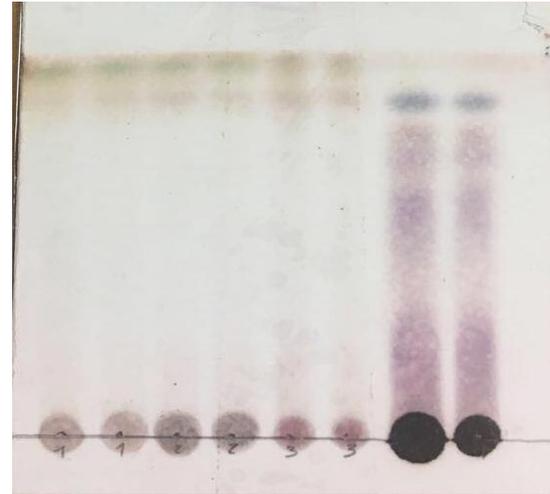
MATERIAL VEGETAL	PESO SECO	PESO FINAL DEL EXTRACTO.	PORCENTAJE DE REDUCCION.
Hoja de <i>Eichhornia crassipes</i>	38.66g	1.597g	4.1%
Tallo de <i>Eichhornia crassipes</i>	53.66g	1.490g	2.77%
Raíz de <i>Eichhornia crassipes</i>	89.17g	1.446g	1.62%
<i>Lemna gibba</i>	21.18g	3.283g	15.5%



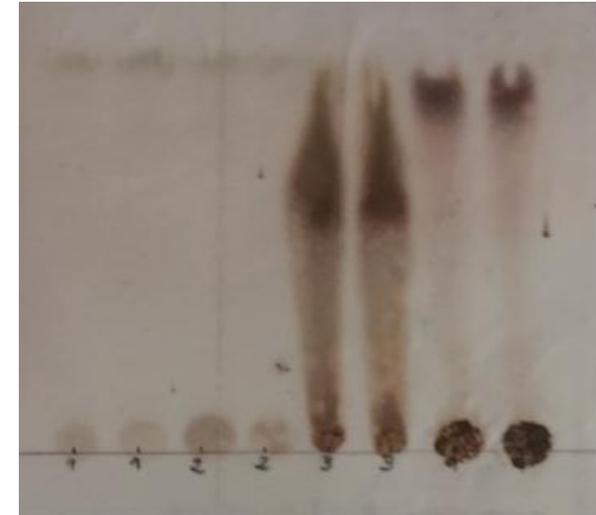
## DETERMINACIÓN DE LA POLARIDAD DE LOS EXTRACTOS



Cromatografía 8:2, compuestos apolares.



Cromatografía 1:1, compuestos polares.



Cromatografía 100% en Acetato de etilo.

### Orden de polaridad extractos

Hoja de *Eichhornia crassipes*

Raíz de *Eichhornia crassipes*

*Lemna gibba*

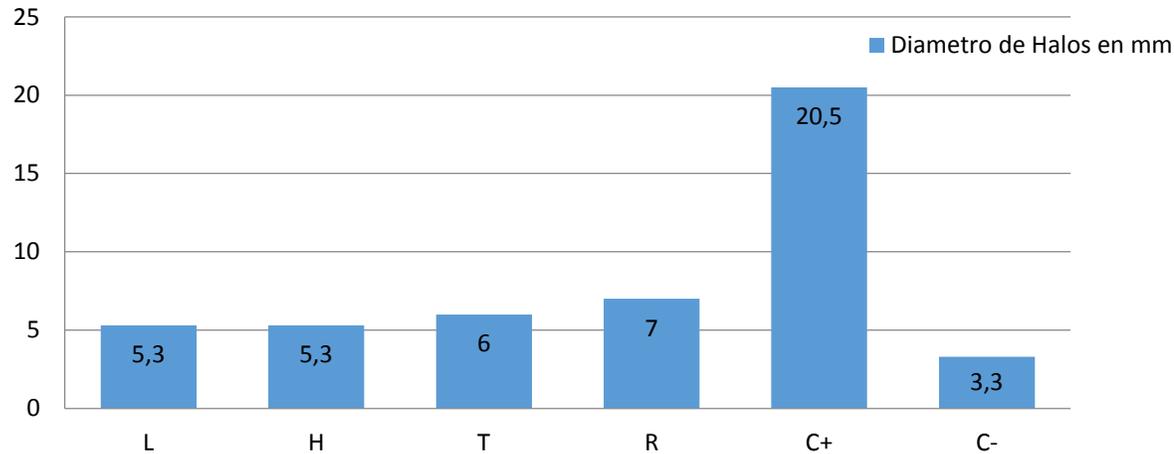
Tallo de *Eichhornia crassipes*

1. *Lemna gibba*
2. tallo de *Eichhornia crassipes*
3. raíz de *Eichhornia crassipes*
4. hoja de *Eichhornia crassipes*

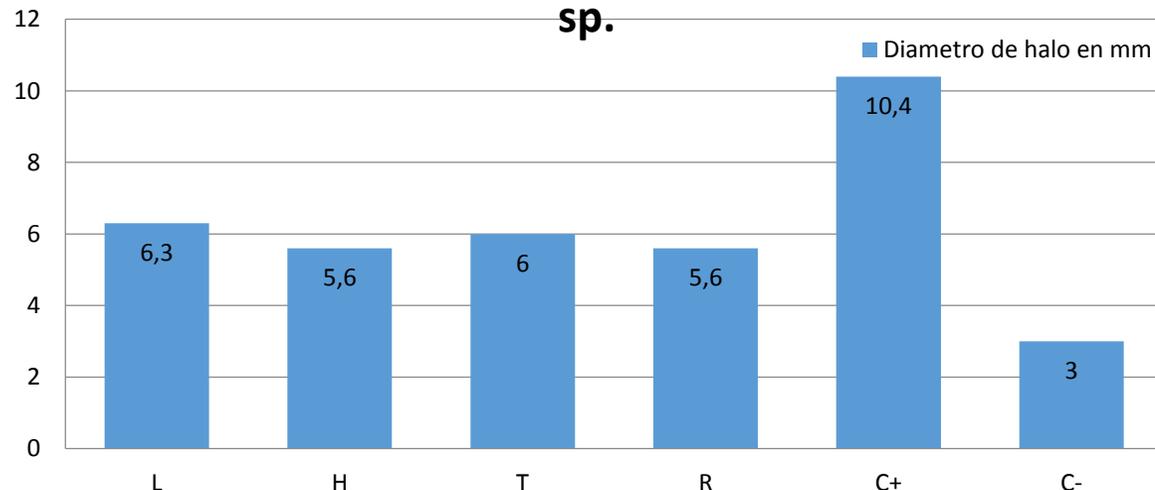


## DIFUSIÓN RADIAL EN AGAR Bacterias

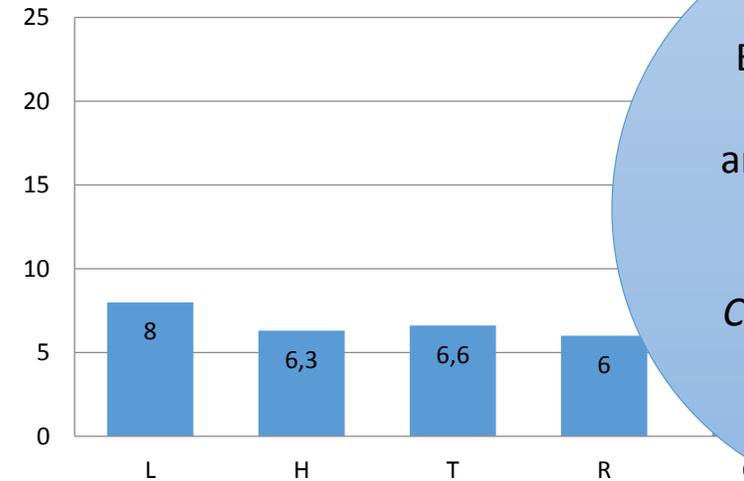
Halos de inhibición extractos vs *Lelliottia* sp.



Halos de inhibición extractos vs *xanthomonas* sp.



Halos de inhibición extractos vs *Sthaphylococcus epidermidis*, *Citrobacter freundii*, *Candida glabrata*.



Extractos de *Lemna gibba* efecto antibacteriano frente a *Sthaphylococcus epidermidis*, *Citrobacter freundii*, *Candida glabrata*.

- El extracto con mayor actividad antimicrobiana frente a *Lelliottia* sp. Fue (R) raíz de *Eichornnia crassipes*
- El extracto con mayor actividad antimicrobiana frente a *Ralstonia* sp. Fue (L) *Lemna gibba*.
- El extracto con mayor actividad antimicrobiana frente a *Xanthomonas* sp. Fue (L) *Lemna gibba*.

L: *Lemna gibba* , H: Hoja de *Eichornnia crassipes*, T: tallo de *Eichornnia crassipes*, R: raíz de *Eichornnia crassipes*, C+: control positivo y C-: control negativo.

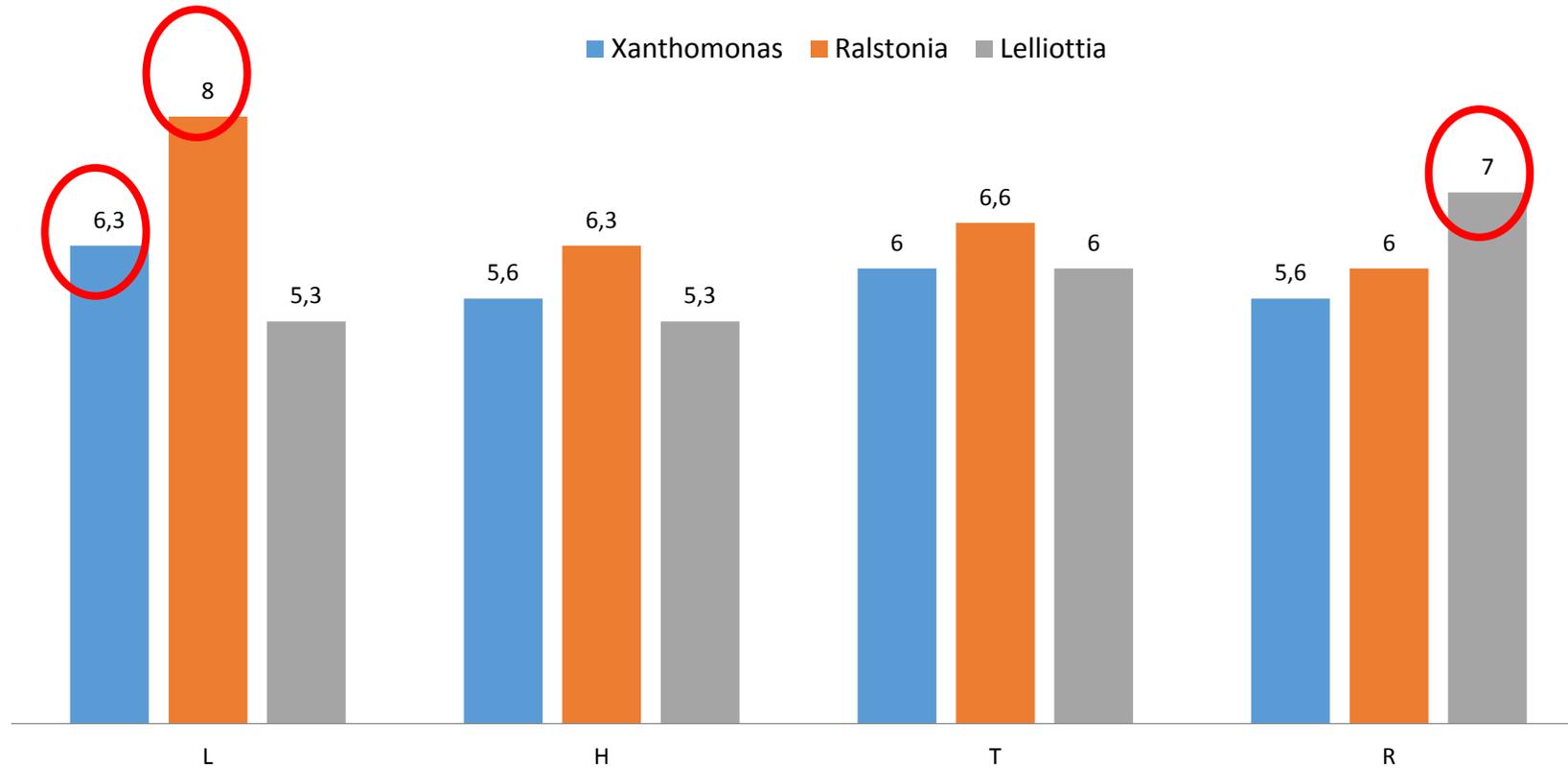


# DIFUSIÓN EN AGAR Bacterias

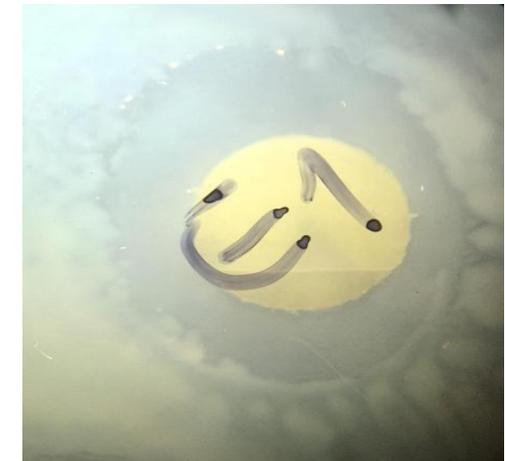
Valderrama 2015 evaluación de *Lemna gibba* y *Eichhornnia crassipes* en remoción de coliformes fecales

## Extractos vs Bacterias

Xanthomonas Ralstonia Lelliottia



Comparación de los halos de inhibición en 2016 estudiantes UCMC, *Lemna gibba* capaz de inhibir crecimiento de *k.pneumoniae*, *S. aureus*, *E.coli*



Halo de inhibición de extractos vs *Lelliottia* sp.

## DIFUSIÓN EN AGAR Hongos

- En la actividad anti fúngica no se pudieron interpretar los halos de inhibición debido a que no hubo un crecimiento homogéneo en los medios de cultivo.

Dra. Méndez y Dr. Marco 2001 la aplicación de los métodos de difusión radial en agar para probar agentes antifúngicos es limitada

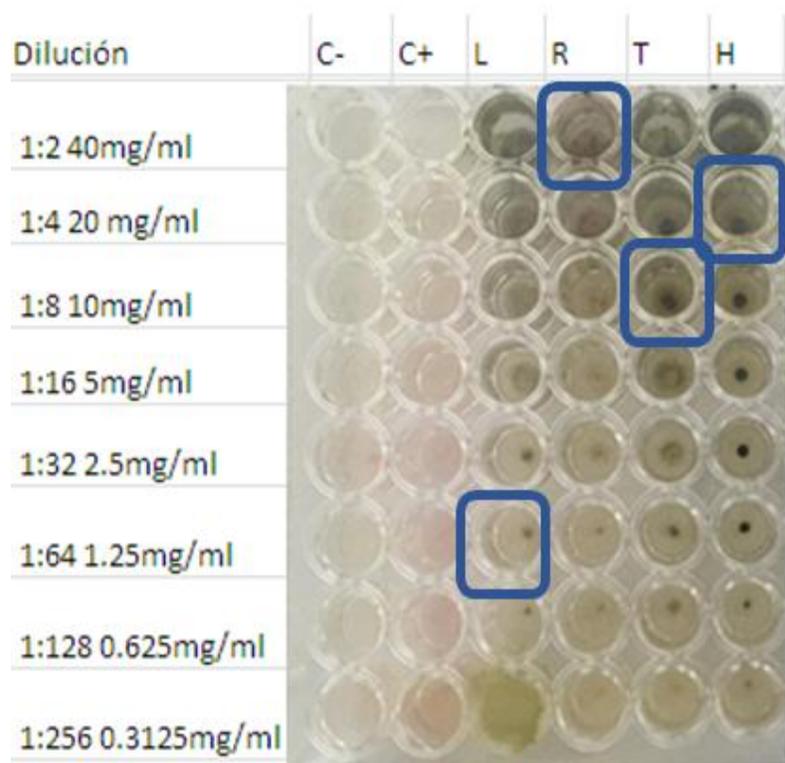


Bernal y Guzmán, los microorganismos de crecimiento lento revelan resultados que no son confiables

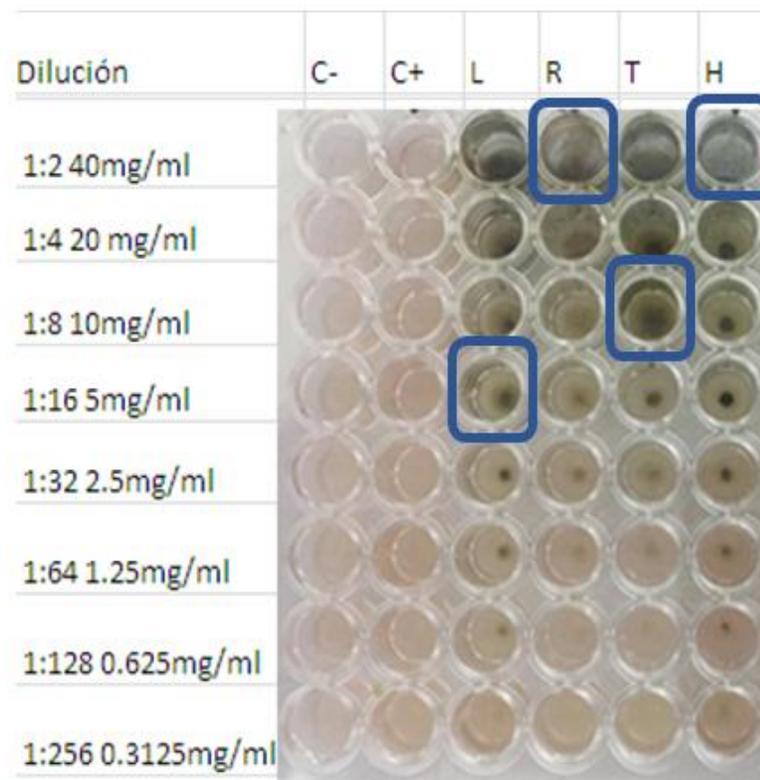


# CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA EN MICROPLACA

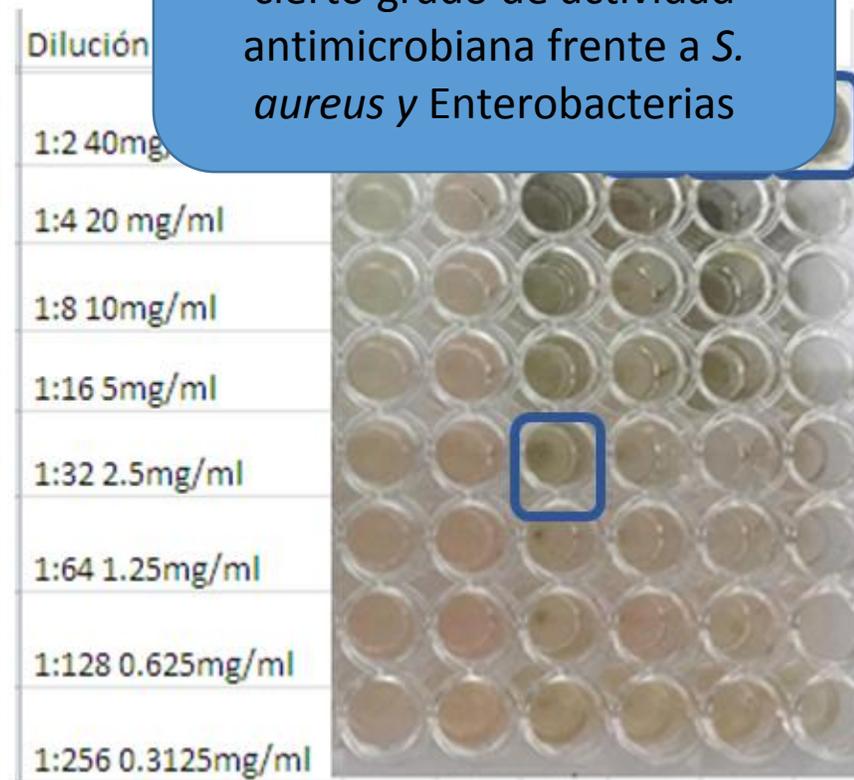
Microdilución en placa de extractos vs *Lelliottia* sp.



Microdilución en placa de extractos vs *Xanthomonas* sp.



2018 estudiantes UCMC todos los extractos presentan cierto grado de actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* y Enterobacterias

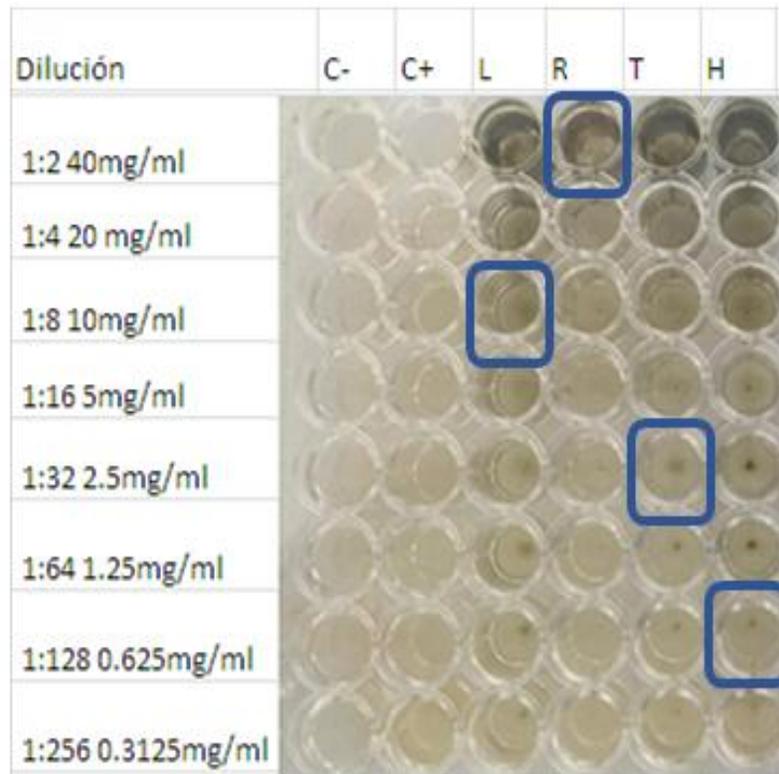


C-: control negativo, C+: control positivo, L: *Lemna gibba*, R: raíz de *Eichornnia crassipes*, T: tallo de *Eichornnia crassipes*, H: Hoja de *Eichornnia crassipes*.

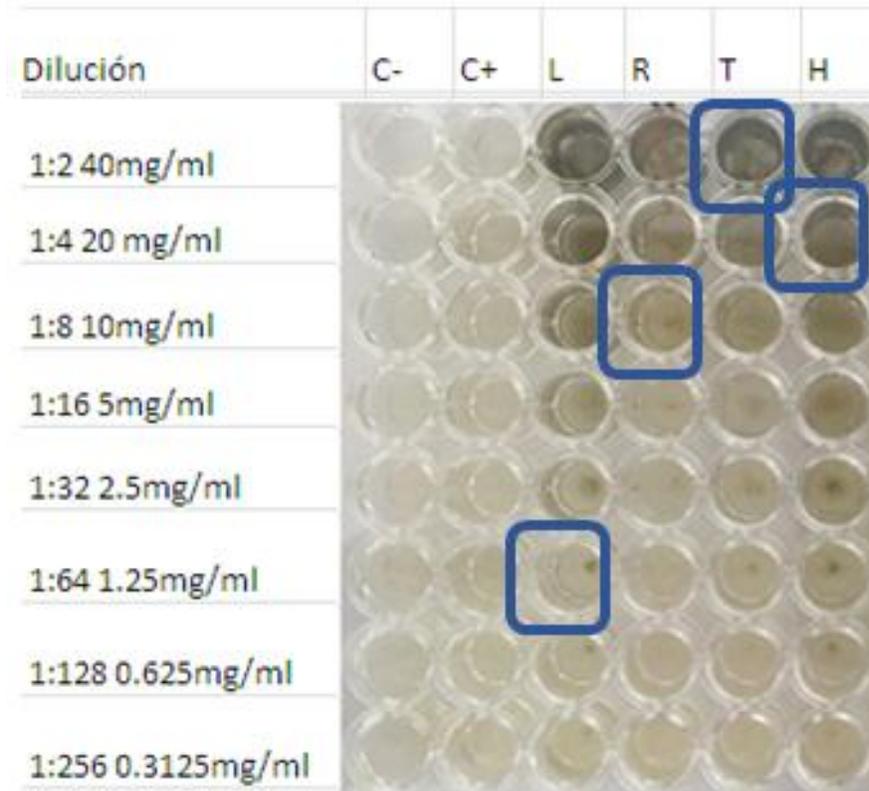


# CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA EN MICROPLACA

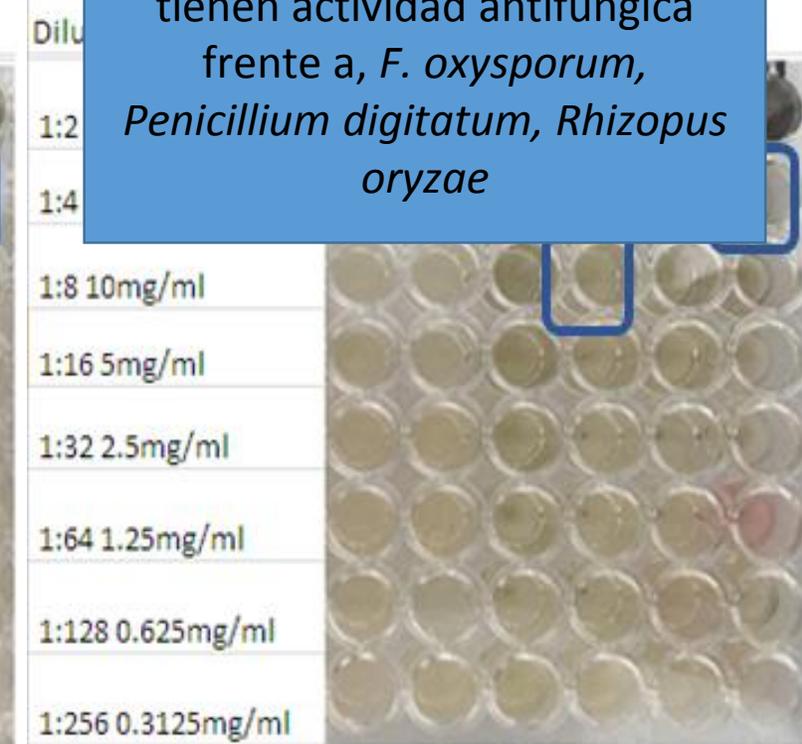
Microdilución en placa de extractos vs *Brotrytis sp. C-bios*



Microdilucion en placa de extractos vs *Bortytis sp. Ucmc*



M Effiong 2009, extractos etanólicos de *Lemna gibba* tienen actividad antifúngica frente a, *F. oxysporum*, *Penicillium digitatum*, *Rhizopus oryzae*



C-: control negativo, C+: control positivo, L: *Lemna gibba*, R: raíz de *Eichornnia crassipes*, T: tallo de *Eichornnia crassipes*, H: Hoja de *Eichornnia crassipes*.



- Se concluye que todos los extractos evaluados presentan capacidad de inhibición frente a los microorganismos, siendo *Lemna gibba* el extracto que mostro mayor capacidad de inhibición en técnica de difusión radial en agar y concentración mínima inhibitoria.
- Se estableció la polaridad de los extractos, obteniendo como resultado mayor polaridad en hoja y raíz de *Eichhornia crassipes* y polaridad baja en *Lemna gibba* y el tallo de *Eichhornia crassipes*.
- El método de difusión radial en disco para hongos se debe estandarizar y mejorar para así evitar contaminaciones en los ensayos, y obtener resultados completamente coherentes y sin interferencias.
- Se deben seguir haciendo estudios similares a este trabajo para determinar cuáles son los agentes responsables de la inhibición frente a microorganismos de importancia en salud vegetal.

- Agradecemos a la institución que nos ha visto crecer académicamente, nos ha apoyado y fortalecido en este proceso. Al grupo de investigación CEPARIUM que abrió sus brazos para recibirnos, especialmente a nuestra asesora por su compromiso y dedicación con nosotros.
- Agradecemos al profesor Edison Tello y al laboratorio de bioprospección de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de la Sabana.
- Agradecemos al Centro de Biosistemas de la Universidad Jorge Tadeo Lozano y al laboratorio de microbiología por habernos brindado un espacio adecuado y los equipos e implementos necesarios.

- (1) Slabbinck, B., De Baets, B., Dawyndt, P. and De Vos, P. (2010). Análisis de Pseudomonas Fitopatógenas Usando Métodos Inteligentes de Aprendizaje: Un Enfoque General Sobre Taxonomía y Análisis de Ácidos Grasos Dentro del Género Pseudomonas. Revista Mexicana de Fitopatología, [online] 28(1). Available at: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092010000100001](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092010000100001) [Accessed 6 Apr. 2018].
- (2) Rodríguez Beraud, M., Wyss Valdés, A. and Hormazábal Vásquez, .: (2015). Evaluation of modified atmosphere bag and sulphur dioxide concentrations applied on highbush blueberries fruit (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Emerald. Scientia agropecuaria, [online] pp.259-270. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2077-99172015000400003](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172015000400003) [7 Apr. 2018].
- (3) Domingo d, Lopez-brea m, Plantas con acción antimicrobiana, 2003
- (4) Arbeláez Torres, G. (2003). ALGUNOS ASPECTOS DE LOS HONGOS DEL GENERO Fusarium Y DE LA ESPECIE Fusarium oxysporum. revista universidad nacional, [online] 17, pp.11-22. Available at: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/21538/22543> [Accessed 14 Apr. 2018].
- (5) Carvalho, F. Zhong, N., Tavares y Klaine S.1998. Rastreo de plaguicidas en los trópicos. Boletín del OEIA No 40.
- (6) Capítulo 6. Malezas acuáticas [Internet]. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2017 [cited 2 August 2017]. Available from: <http://www.fao.org/docrep/t1147s/t1147s0a.ht>
- (7) Fao.org. (2018). El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2001. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/x9800s/x9800s16.htm> [citado 10 abril. 2018].
- (8) Hart CA. La resistencia a los antibióticos. ¿Un problema creciente? Br Med J (Ed Latinoam) 1998;6:147-8.
- (9) Pan American Health Organization. Antimicrobial resistance Bibliography. Washington DC: Division of Disease Prevention and Control Communicable Diseases Program, 2001.
- (10) Pareja Sánchez, j. y Betancourt Vásquez, m. (2018). Caracterización biológica y molecular de hongos fitopatogenos foliares asociados a forestales nativos en agro ecosistemas premontanos de Risaralda.
- (11) Lopez-brea, M. y Domingo, D. (2003). Plantas Con Acción Antimicrobiana. ResearchGate, [online] 16(4), pp.385-393. Disponible en : [https://www.researchgate.net/publication/28066457\\_Plantas\\_con\\_accion\\_antimicrobiana?enrichId=rgreq-d46f837d9c7511ebc24f24f6b91e177b-XX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzI4MDY2NDU3O0FTOjEwMTEzNDE2OTU0MjY1OUAxdAxMTIzNjc2NTYz&el=1\\_x\\_3&esc=publicationCoverPd](https://www.researchgate.net/publication/28066457_Plantas_con_accion_antimicrobiana?enrichId=rgreq-d46f837d9c7511ebc24f24f6b91e177b-XX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzI4MDY2NDU3O0FTOjEwMTEzNDE2OTU0MjY1OUAxdAxMTIzNjc2NTYz&el=1_x_3&esc=publicationCoverPd) [Accessed 11 Apr. 2018].
- (12) Solms, (. (2018). Eichhornia crassipes (Mart.) Solms, 1883. [pdf] [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/222545/Eichhornia\\_crassipes.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/222545/Eichhornia_crassipes.pdf), Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México.
- (13) Sanmuga Priya, E. and Senthamil Selvan, P. (2017). Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) – An efficient and economic adsorbent for textile effluent treatment – A review. Arabian Journal of Chemistry, [online] 10, pp.S3548-S3558. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1016/j.arabjc.2014.03.002> [Accessed 4 Apr. 2018].
- (14) Arroyave, M. (2004). la lenteja de agua (Iemna minor l.): una planta acuática promisorio. Revista EIA, ISSN 1794-1237, [online] pp.33-38. Available at: <http://www.scielo.org.co/pdf/eia/n1/n1a04.pdf> [Accessed 1 Apr. 2018].