

PÉREZ ARBELAEZIA

Nº 19 - Diciembre de 2008

ISSN 0120-7717



Jardín Botánico de Bogotá
José Celestino Mutis
Centro de Investigación y Desarrollo Científico



ENRIQUE PÉREZ ARBELÁEZ
1896 - 1972

Sacerdote - Investigador
Fundador del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis

PÉREZ
ARBELAEZIA

Publicación del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis, dedicada a la memoria de su fundador, el doctor *Enrique Pérez Arbeláez*, quien consagró su vida a institucionalizar la tradición científica de Colombia y a fomentar la investigación, divulgación y defensa de nuestros recursos naturales.



Mutisia clematis L.

Planta ornamental nativa seleccionada como emblema del Jardín Botánico de Bogotá. Debe su nombre a la exaltación que el ilustre botánico *Linneo* quiso hacer en homenaje a *José Celestino Mutis*.

Es una planta trepadora con zarcillos, hojas tomentosas en tonalidades verde grisáceo y flores casi siempre pedunculares, que con su color rojo vivo atraen insectos y colibríes.



Alcalde Mayor de Bogotá, D.C.
Samuel Moreno Rojas

Jardín Botánico de Bogotá «José Celestino Mutis».

Junta Directiva

Juan Antonio Nieto Escalante
Secretario Distrital de Ambiente

Carlos Ossa Escobar
Rector - Universidad Distrital
Francisco José de Caldas

Tomás León Sicard
Director - Instituto de Estudios Ambientales, IDEA. Universidad Nacional de Colombia

Germán Galindo Hernández
Fundación Humedal La Conejera

Ángel Guarnizo Vásquez
Coordinador Unidad de Turismo de Naturaleza – Instituto de Turismo de Bogotá

Eugenia Ponce de León Chaux
Directora General - Instituto Alexander von Humboldt

Comité Directivo

Herman Martínez Gómez
Director Jardín Botánico

Julio César Pulido Puerto
Secretario General (E)

Eduardo Villegas Flórez
Subdirector Científico

Frank Leonardo Hernández Ávila
Subdirector Educativo y Cultural

Federico de Jesús Bula Gutiérrez
Subdirector Técnico y Operativo

Hugo Alejandro Sánchez Hernández
Jefe Oficina Asesor Jurídico

Julio César Pulido Puerto
Jefe Oficina de Planeación

Francisco Bocanegra Polanía
Jefe Oficina de Arborización

Amparo Morales Amador
Jefe Oficina de Control Interno

PÉREZ ARBELAEZIA

Número 19 - Diciembre de 2008

Publicación Anual

PÉREZ ARBELAEZIA © 2008 - ISSN 0120-7717

La revista *Pérez Arbelaezia* es la publicación científica anual del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis. Está dirigida a investigadores, estudiantes, científicos y a todas las personas interesadas en los temas que esta aborda.

Publica artículos científicos originales e inéditos que desarrollan temas de botánica, biología de especies y ecología de ecosistemas altoandinos; a la vez, abre el espacio para la presentación de ensayos, reflexiones, revisiones y conferencias que aportan al conocimiento de dichas disciplinas, así como de otras áreas misionales de la entidad tales como la arborización urbana, la agricultura urbana y la educación ambiental.

Comité Editorial Jardín Botánico

La edición de las publicaciones del Jardín Botánico de Bogotá se realiza de manera participativa ascendente a través de Comités Operativos integrados por interlocutores válidos de cada subdirección y dependencia, la coordinación editorial, la firma editora externa y el nivel directivo de la entidad, que conforman el comité editorial.

En la planeación, compilación, coordinación y edición de esta revista participaron por parte del Comité Operativo Interno de la Subdirección Científica:

Johanna Katherine Bernal Sotelo
Vilma Isabel Jaimes Sánchez
Pamela Tatiana Zúñiga Upegui
Eduardo Villegas Flórez

Investigadora
Investigadora
Investigadora
Subdirector Científico

Comité Editorial Honorario

Santiago Madriñán Restrepo

Profesor. Departamento de Ciencias
Biológicas

Universidad de los Andes

Hernán Mauricio Romero

Profesor. Departamento de Biología

Universidad Nacional de Colombia

Profesor - Investigador

Andrés Etter Rothlisberger

Departamento de Biología y Territorio
Universidad Javeriana

Director revista Pérez Arbelaeza

Eduardo Villegas Flórez

Subdirector Científico

Coordinación general editorial Jardín Botánico de Bogotá

José Celestino Mutis

Litta Buitrago Sandoval

Editora

Patricia Jaramillo M. - Comunicación Ambiental

Coordinación editorial

Patricia Jaramillo M. - Comunicación Ambiental

• Corrección de rigor científico:

Martha Yaneth Vallejo

Germán Ignacio Andrade Pérez

• Corrección de estilo:

Juan Carlos Gómez Amaya

• Diseño y diagramación:

Bibiana Andrea Alturo M.

Jovana Angélica Noguera V.

Impresión

Imprenta Nacional de Colombia.

Ilustración carátula

Mutisia clematis L. Lámina Expedición Botánica.

La reproducción total o parcial de un artículo debe citar la fuente. Corresponde a los autores la total responsabilidad de las ideas, tesis y conceptos emitidos en sus respectivos artículos.

Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis

Av. Calle 63 No. 68-95 / Teléfono: 437 7060 / Fax: 630 5075 www.jbb.gov.co



Grupo de Árbitros

Camilo Cárdenas	Docente – Investigador	Universidad Nacional de Colombia
Carlos A. Devia C.	Docente – Investigador	Departamento de Ecología Pontificia Universidad Javeriana
César Ruíz	Investigador	Conservación Internacional
Eduardo Behrentz	Director	Centro de estudios en Sostenibilidad Urbana y Regional – Universidad de los Andes
Jeroen Pascal	Consultor	Internacional Royal Haskoning
Jorge Jácome	Profesor Asistente	Departamento de Biología Pontificia Universidad Javeriana
José Hipólito Isaza	Docente	Departamento de Química Universidad del Valle
José Ignacio Barrera	Coordinador	Escuela de Restauración Ecológica Pontificia Universidad Javeriana
Luis David Gómez	Coordinador	Prácticas Estudiantiles Pontificia Universidad Javeriana
María Soledad Hernández	Investigadora	Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas - Sinchi
Nancy Isabel Castillo	Docente - Investigadora	Laboratorio Agroambiente 2015
Luis Guillermo Baptiste	Subdirector	Instituto Alexander von Humboldt
Orlando Rangel	Docente – Investigador	Universidad Nacional de Colombia
Roxana Yockteng	Profesora asociada	Departamento Sistemático de Evolución Museo Nacional de Historia Natural
Willian Fernando Castrillón	Docente	Universidad Distrital Francisco José de Caldas

CONTENIDO

Presentación.....	10
Reflexiones en torno a la Educación Ambiental en Bogotá a partir de la implementación de Escenarios Vivos de Aprendizaje, EVA, en siete quebradas del Distrito Capital. Alexander Delgado/Luisa Galindo/Luz Marina Buitrago/Néstor Céspedes/Edna Margarita Vargas/Maritzá Suárez/Edwin Ussa	15
Aspectos ambientales y paleoambientales de los enclaves secos y el caso particular del valle del Checua (Nemocón, Colombia). Thomas van der Hammen.....	35
Modelo de distribución potencial de <i>Condalia thomasi</i> (Rhamnaceae), especie endémica del valle del río Checua, Sabana de Bogotá, Colombia. Catalina Giraldo P./Carolina Alcázar Caicedo.....	49
Ensayo experimental con microorganismos benéficos y su potencial uso en la implementación de los proyectos de restauración ecológica en el Distrito Capital. Claudia Cristina Rojas Marulanda.....	71
Caracterización fisionómica, estructural y florística de algunas comunidades vegetales en la cuenca media del río Tunjuelo. Sandra Pilar Cortés Sánchez.....	85
Análisis del estado actual de conectividad de las coberturas vegetales de la cuenca media del río Tunjuelo. Camilo A. Correa Ayram.....	115
Eficacia de dos hongos entomopatógenos para el control de <i>Pseudococcus</i> spp. Raúl H. Posada Almanza/Lermen Forigua Acosta	141
Análisis y selección de diferentes métodos para eliminar las saponinas en dos variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. Diana C. Corzo Barragán.....	153

Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies vegetales <i>Valeriana pilosa</i> , <i>Hesperomeles ferruginea</i> , <i>Myrcianthes rhopaloides</i> y <i>Passiflora manicata</i> frente a microorganismos patógenos.	
Andrea J. Lizcano Ramón/María E. Torres Cárcamo/Jenny L. Vergara González.....	163
Vegetación potencial en la cuenca media del río Tunjuelo y procesos de cambio en la cobertura vegetal, otro enfoque metodológico para un análisis multitemporal.	
Sandra Pilar Cortés Sánchez.....	189
Requerimientos de edición para la publicación de artículos en la revista.....	205

PRESENTACIÓN

Apreciado lector:

Desde 1985 la revista *Pérez Arbelaez* ha sido el medio a través del cual el Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis presenta los resultados de las investigaciones realizadas por el equipo de científicos dedicados al conocimiento de los ecosistemas altoandinos y sus componentes, así como las de investigadores y entidades afines con el fin de aportar en el cumplimiento de los objetivos estratégicos institucionales.

En esta oportunidad, en cumplimiento a los objetivos «Fortalecer los cambios de actitud de la población frente a la valoración, uso y conservación de la flora» y «Aumentar las áreas donde se apliquen estrategias de conservación de la flora de bosque Andino y páramo» se publica el artículo resultado del convenio interadministrativo entre la Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá, EAAB, sobre la aplicación de la metodología Escenarios Vivos de Aprendizaje, EVA, entendidos como *espacios dentro de un territorio compuesto por elementos geográficos, biológicos y sociales que interactúan con las dinámicas de producción económica*.

A través de los EVA se pretende realizar la identificación, caracterización, análisis, comprensión y transformación de las relaciones que se dan entre dichos elementos. Su aplicación tuvo lugar mediante plantaciones participativas y pedagógicas en algunos sectores urbanos y rurales de las quebradas Limas y sus afluentes, Zanjón de la Estrella, Trompetica, Chiguaza, Nutria, Morales, Bolonia y Santa Librada en la cuenca del río Tunjuelo.

En torno al objetivo «Aumentar las áreas donde se apliquen estrategias de conservación de la flora de bosque Andino y páramo» se presenta el artículo del doctor Thomas van der Hammen *Aspectos ambientales y palaeoambientales de los enclaves secos y el caso particular del valle del Checua, Nemocón, Colombia*, en el que hace una descripción detallada de la vegetación, el ambiente, los palaeodatos y los cambios climáticos y de vegetación de los enclaves xerofíticos y subxerofíticos para llegar al origen, especiación y adaptación del género *Condalia* en Nemocón, donde encontró, como él mismo dice «una especie arborecente nueva en la

Sabana de Bogotá, un género nuevo para Colombia y, hasta donde sabemos, endémica en la región de Checua».

En la misma área se llevó a cabo el estudio *Modelo de distribución potencial de Condalia thomasiiana (Rhamnaceae), especie endémica del valle del río Checua, Sabana de Bogotá, Colombia*, cuyas poblaciones están en peligro crítico de extinción especialmente por la fragmentación del único hábitat donde están presentes.

El objetivo de esta investigación fue explorar un modelo de distribución potencial para conocer patrones y relaciones existentes entre los datos de presencia conocida y las variables ambientales de sitio. Se encontró que la especie *Condalia thomasiiana* solo está distribuida en la zona media baja de valle del río Checua en los municipios de Nemocón y Suesca, en un área total de 78,6 km², entre los 2.600 y los 2.880 m. Por este motivo se plantean alternativas de conservación de esta especie endémica y de su área de permanencia actual.

Sobre el objetivo «Aumentar la calidad ambiental de los ecosistemas estratégicos y del paisaje de la ciudad» se presenta el artículo *Ensayo experimental con microorganismos benéficos con miras a implementar en modelos de restauración ecológica en el Distrito Capital*, que muestra los resultados obtenidos en la multiplicación con plantas trampa y reporta la presencia de esporas nativas de las especies *Lycianthes hycioides* (gurrubo), *Dodonaea viscosa* (hayuelo) y *Persea mutisii* (aguacatillo) en tres estados de crecimiento.

El empleo de microorganismos para el mejoramiento de las calidades edáficas o para la biofertilización de plantas ha sido empleado en los últimos años como estrategia para mejorar los rendimientos o disminuir la cantidad de agroquímicos al suelo. Tras los resultados obtenidos se propone el empleo de microorganismos benéficos (micorrizas y rhizobium) para inocular las especies que el Jardín Botánico José Celestino Mutis emplea en modelos de restauración ecológica.

En cumplimiento al mismo objetivo se expone el trabajo *Caracterización fisionómica, estructural y florística de algunas comunidades vegetales en la cuenca media del río Tunjuelo*. A pesar de la fuerte transformación el 39,8 por ciento de este territorio aún presenta vegetación de tipo natural y seminatural correspondiente a las formaciones vegetales de las regiones de vida andina y paramuna. En este estudio

se presenta la caracterización de cuatro tipos fisionómicos de vegetación entre los que se cuentan pastizales subxerófitos, matorrales subxerófitos, vegetación de páramo y bosques ribereños, que corresponden a quince comunidades vegetales descritas con relación a su composición florística y estructura y se mencionan algunos aspectos ecológicos de los ecosistemas relacionados.

Así mismo se presenta el artículo *Análisis del estado actual de conectividad de las coberturas vegetales de la cuenca media del río Tunjuelo*, en el cual se propone un modelo de conectividad estructural y funcional entre los fragmentos de vegetación natural que aún persisten. Los resultados demuestran que a nivel de paisaje el estado de conectividad estructural de las coberturas vegetales de la cuenca media del río Tunjuelo está ampliamente influenciado por el dominio en general de la matriz antrópica.

De acuerdo con los resultados encontrados es evidente el bajo grado de conectividad estructural de las coberturas de bosque y matorral y, por el contrario, la vegetación riparia confirmó su propiedad de elemento conector del paisaje presentando un alto grado de conectividad espacial. Por medio de las rutas de mínimo costo se pudo confirmar la importancia de asegurar la conectividad por medio de la vegetación riparia y al mismo tiempo disminuir el grado de resistencia por parte de la matriz antrópica.

Adicionalmente se presenta el trabajo *Eficacia de dos hongos entomopatógenos para el control de Pseudococcus spp.* debido al complejo de insectos succionadores pertenecientes al género *Pseudococcus* (Hemiptera: Pseudococcidae) que afecta entre otras especies vegetales al caucho sabanero, *Ficus soatensis* Dugand, especie ampliamente empleada en la arborización urbana de Bogotá. Su asociación con el insecto llevó a evaluar mecanismos de control eficiente, poco contaminantes y con tiempos de residencia bajos por las condiciones de ambiente urbano.

Se evaluó la mortalidad ejercida por los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en formulación de polvo soluble en cinco concentraciones, más un testigo, bajo un diseño completamente aleatorizado sobre el complejo *Pseudococcus* spp. en condiciones de laboratorio.

Los tratamientos evaluados no mostraron efecto sobre la plaga, posiblemente por la especificidad de virulencia de las cepas o la formulación del producto;

el trabajo sugiere la evaluación de otras cepas y nuevas formulaciones para encontrar aislamientos eficaces.

Con relación al objetivo «Aumentar el conocimiento, la oferta, el uso y el aprovechamiento de especies vegetales presentes en los ecosistemas Andinos del Distrito Capital y la región» se realizaron investigaciones como *Análisis y selección del método más apropiado para eliminar las saponinas en dos variedades de Chenopodium quinoa* y *Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies vegetales Valeriana pilosa, Hesperomeles ferruginea, Myrcianthes rhopaloides y Passiflora manicata frente a microorganismos patógenos*.

En el primero se analizó y seleccionó el método más apropiado para eliminar las saponinas de dos variedades amargas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), amarilla de maragani y sajama morada, según criterios de costo beneficio, con el fin de incentivar la propagación, el uso y el manejo de la especie en la región debido a sus características.

Este estudio permitirá a los productores primarios hacer la desaponificación con un método económico y favorable con el ambiente. Los métodos de desaponificación valorados fueron: por vía húmeda, combinado, químico, seco y termomecánico; el mejor resultado se obtuvo con el método combinado, porque se logró eliminar el 75 por ciento de las saponinas.

En el segundo, y mediante la técnica de difusión de disco en agar de Kirby-Bauer, se midió la susceptibilidad *in vitro* de los microorganismos patógenos seleccionados frente a sustancias de origen natural con potencial antimicrobiano. En este trabajo se concluyó que el extracto etanólico de *Passiflora manicata* fue el que presentó mayor acción frente a todos los microorganismos, permitiendo realizar el fraccionamiento con los diferentes solventes identificando a la fase acuosa como la responsable del principio activo con potencial antimicrobiano.

Este trabajo recomienda darle continuidad a futuras investigaciones en torno a la potencialidad antimicrobiana de las especies seleccionadas, para lo cual es necesario aislar y elucidar la molécula capaz de inhibir a los microorganismos tratados.

El artículo *Vegetación potencial en la cuenca media del río Tunjuelo y procesos de cambio en la cobertura vegetal, otro enfoque metodológico para un análisis multitemporal* presenta los

resultados obtenidos tras la interpretación de los procesos de cambio ocurridos en la vegetación a partir de la comparación entre el modelo de vegetación potencial, como escenario ecosistémico original, y el mapa de cobertura vegetal actual, con lo cual se logró establecer que el 54 por ciento de los ecosistemas naturales del área de estudio han sido transformados, mientras que apenas un 24 por ciento se encuentra con ecosistemas que abarcan comunidades vegetales de bosque, páramo, vegetación riparia, matorrales y herbazales subxerófitos en conservación, los cuales son importantes para sostener la biodiversidad local y regional.

Los resultados de estas investigaciones sin duda aportan al conocimiento sobre los ecosistemas altoandinos y son muy importantes para garantizar la sostenibilidad de los servicios ambientales de la ciudad. Esperamos que contribuyan al desarrollo sostenible de nuestra región y aporten beneficios a la comunidad en general.



Herman Martínez Gómez

Jardín Botánico de Bogotá

José Celestino Mutis

Director

Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos

Por

ANDREA JIMENA LIZCANO RAMÓN¹

MARÍA EUGENIA TORRES CÁRCAMO²

JENNY LISSETH VERGARA GONZÁLEZ³

Recibido: 2 de octubre de 2009 / Aceptado: 10 de diciembre de 2009

Resumen

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos vegetales y aceites esenciales obtenidos a partir de *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a los microorganismos patógenos *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Alternaria* sp. Esta actividad se observó mediante la técnica de difusión de disco en agar de Kirby-Bauer, prueba que permitió medir la susceptibilidad *in vitro* de los microorganismos patógenos seleccionados frente a sustancias de origen natural con potencial antimicrobiano, utilizando 300 µg de extracto obtenido por especie vegetal, 10 µg de cloramfenicol como control positivo y agua estéril como control negativo.

Al analizar los resultados de los diferentes ensayos se observó que el extracto etanólico de *Passiflora manicata* presentó mayor actividad antimicrobiana frente a *E. coli*, *Candida albicans* y *B. subtilis*, razón por la cual se seleccionó para fraccionar el extracto crudo utilizando como solventes diclorometano, agua y alcohol

1. Microbióloga Industrial. alizcano@javeriana.edu.co

2. Microbióloga Industrial. Profesional de la subdirección científica, Jardín Botánico José Celestino Mutis. mtorres@jbb.gov.co

3. Microbióloga Industrial. jenny.vergara@javeriana.edu.co

isoamílico, lo que demostró que la fase acuosa fue la de mayor efecto inhibitorio frente a todos los microorganismos evaluados. Los resultados obtenidos para el aceite esencial de hojas de *Myrcianthes rhopaloides* mostraron inhibición solo frente a *Candida albicans*. En este trabajo se concluyó que el extracto etanólico de *Passiflora manicata* fue el que presentó mayor acción frente a todos los microorganismos, permitiendo realizar el fraccionamiento con los diferentes solventes identificando a la fase acuosa como la responsable del principio activo con potencial antimicrobiano; cabe anotar que para dar continuidad a investigaciones futuras en torno a la potencialidad antimicrobiana de las especies es necesario el aislamiento y la elucidación de la molécula capaz de inhibir a los microorganismos seleccionados.

Palabras clave

Aceite esencial, antimicrobiano, extracto vegetal, fase acuosa.

Abstract

The present work was performed in order to observe and determine the antimicrobial effect of ethanolic plant extracts and essential oil *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* and *Passiflora manicata*. These species were tested against the pathogen microorganisms *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Alternaria* sp. For the obtainment of the ethanolic extracts we used dried plant material that was previously crushed; this was cold macerated using ethanol as a solvent during 48 hours. We used reflux ethanol-water (9:1) in order to concentrate it in a reduced pressure. For the obtainment of the essential oil from the leaves of *Myrcianthes rhopaloides* we used the hydrodistillation technique. After, we measured the antimicrobial activity using the diffusion disc agar technique of Kirby-Bauer. This technique allows us to measure the *in vitro* oversensitivity of the pathogen and phytopathogen microorganisms, to the natural origin substances, which have antimicrobial potential. We took 300 µg of each extract, using 10 µg of cloramfenicol as a positive control and water as a negative control.

As a result of the different tests, we observed that the ethanolic extract of *Passiflora manicata* had a better antimicrobial activity against *E. coli*, *Candida albicans* and *B. subtilis*. For this reason we chose the extract of *Passiflora manicata* and divided it using dichloromethane, water and isoamilic alcohol as solvents.

We found that the aqueous phase showed the highest antimicrobial effect against all the evaluated microorganisms. The results for the essential oil which was obtained from the leaves of *Myrcianthes rophaloides* showed that *Candida albicans* was inhibited the most. In this work we concluded that *Passiflora manicata* was the ethanolic extract that showed the best results against all the microorganisms, permitting the division with the different solvents. We identified that the aqueous phase was responsible for all of the principle actions because there was the antimicrobial potential. In order to continue future investigations about antimicrobial potential of plant species it is necessary to find and isolate the specific molecule able to inhibit the microorganism chosen.

Key words

Antimicrobial, aqueous phase, essential oil, plant extracts.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos muy remotos las plantas han cumplido un papel importante en el área terapéutica gracias a las múltiples propiedades que ellas poseen. Por esta razón en las últimas décadas ha ido tomando cada día mayor importancia su estudio y el desarrollo de técnicas analíticas que permiten la determinación e identificación de las sustancias o principios activos contenidos en especies vegetales.

Los extractos vegetales son concentrados obtenidos con solventes apropiados como agua, etanol o éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y de sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca (Ruiz & Susunaga 2000). Los métodos de extracción se basan en las diferentes solubilidades de los compuestos encontrados en el material vegetal; por ejemplo, para sustancias de baja polaridad —lípidos— se utilizan solventes como éter de petróleo y cloroformo y para sustancias de mediana y alta polaridad acetato de etilo, etanol y acetona (Arévalo *et al* 1996).

Dichos extractos presentan principios activos o metabolitos secundarios producidos por diversas especies vegetales, siendo moléculas que no son necesarias para el crecimiento y la reproducción de las plantas (Lizcano & Vergara 2008). De acuerdo con D. Domingo & López Brea (2003) en el mundo



se producen alrededor de 100.000 metabolitos secundarios, de los cuales un porcentaje significativo posee cierta actividad frente a microorganismos, entre los que se encuentran los compuestos fenólicos simples, taninos, quinonas, cumarinas, flavonas, terpenoides y alcaloides.

Autores como Manrique (1997) mencionan que una sustancia antimicrobiana se refiere a un producto metabólico de un organismo que es perjudicial o inhibitorio para otros microorganismos en muy pequeñas cantidades y que de acuerdo con su forma de actuar puede ser microbicida o microbiostático. Estas sustancias químicas se han empleado desde el siglo XVIII para el tratamiento de enfermedades infecciosas.

La actividad antibiótica de sustancias químicas se evalúa en la actualidad por diversos métodos. Uno de los más utilizados es la técnica de susceptibilidad antimicrobiana de difusión de disco en agar de Kirby-Bauer (1966), método de difusión en disco que se basa fundamentalmente en incorporar al medio de cultivo el antibiótico o el microorganismo en concentración conocida para que luego de solidificado el medio se adicione la contraparte y se pueda observar la inhibición del crecimiento o los halos de inhibición según la técnica utilizada.

Esta método también abarca la técnica llamada de discos de papel, en la cual el antibiótico a ensayar viene incorporado a discos de papel absorbente en concentración conocida, los cuales se colocan sobre la superficie de una caja de agar sembrado masivamente con el microorganismo en estudio; luego de incubar a la temperatura y el tiempo adecuados se pueden observar halos de inhibición de crecimiento (Arévalo *et al* 1996).

Las especies vegetales priorizadas para el presente estudio pertenecen a diferentes familias y géneros que ya han sido estudiadas por tener principios activos con alguna actividad biológica. Se presentan a continuación generalidades de cada una de ellas.

Myrcianthes rhopaloides (H.B.K.) McVaugh pertenece a la familia Myrtaceae y es conocida en Bogotá por su nombre vernáculo «arrayán». Se encuentra distribuida en Colombia en las cordilleras Central y Oriental en el departamento de Cundinamarca, en el altiplano cundiboyacense y sus alrededores y en el departamento del Tolima. En Cundinamarca en los municipios de La Calera

(Santa Isabel), Facatativa y Bogotá, D.C., en las zonas rurales de Usme (Pasquilla) y Sumapaz (Capitolio) dentro de un rango altitudinal de 2.500 a 3.200 m (Guzmán *et al* 2007).

Esta planta es conocida por sus usos alimenticios, los frutos son comestibles y por su agradable sabor se consumen directamente en jugos con leche y en dulces. A nivel medicinal el uso más frecuente en las áreas rurales de Bogotá es para combatir la diabetes, utilizando diferentes partes de la planta. Los metabolitos secundarios presentes en las hojas son monoterpenos tales como α -pineno y β -pineno, además de 1,8-cineol, mirceno, linalol, terpinen-4-ol y nerolidiol (Guzmán *et al* 2007).

La *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. pertenece a la familia Passifloraceae; los nombres comunes con los cuales es conocida esta especie son flor de la pasión, tacso (Nariño), curubo de monte (Quindío) y diablito (Ecuador). Es nativa de Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú. Posiblemente es originaria de los Andes de Perú y Chile, entre 1.400 y 2.800 m de altitud. La planta no se considera comestible, sin embargo se ha reportado que es resistente a los nemátodos y a las enfermedades fúngicas —antracnosis, oidio y *Alternaria* sp.— (Torres 2007).

La especie *Hesperomeles ferruginea* (Pers.) Benth pertenece a la familia Rosaceae y se conoce como mortiño (Cordillera Central, Cundinamarca). Está distribuida a lo largo de Sudamérica en Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. Se encuentra entre 2.800 y 3.900 m (Luteyn 1999). En Cundinamarca se localiza en los municipios de Cogua, La Aguadita y San Miguel y en la represa del Neusa. En Bogotá en las localidades de Ciudad Bolívar, Sumapaz y Usme y en los cerros orientales (Guzmán *et al* 2007). En las áreas rurales del sur de Bogotá esta especie, al igual que *H. goudotiana*, es bastante conocida y utilizada. El fruto maduro se consume directamente o se usa para preparar mermeladas, dulces y yogurt. En el departamento de Boyacá los frutos de mortiño se tuestan con azúcar o panela y se prepara «masato» para las fiestas de San Pedro a finales de junio (Cardozo 2004).

Valeriana pilosa pertenece a la familia Valerianaceae. Se distribuye en Ecuador, Perú y Colombia entre 2.700 y 4.250 m. En Colombia se encuentra en los departamentos de Antioquia, Caldas, Santander, Boyacá y Cundinamarca entre



2.700 y 3.800 m. En Bogotá y sus alrededores se encuentra muy difundido el uso de los tallos y de las hojas de estas plantas como tranquilizantes para la conciliación del sueño y otras afecciones del sistema nervioso. Sin embargo, la mayoría de las personas adquieren los fragmentos de estas plantas en la sección de medicinales de las plazas de mercado y en centros naturistas, muchas veces sin tener certeza sobre la identidad de la especie a la cual corresponde dicho fragmento, ya que son pocas las personas que reconocen esta planta en su ambiente natural (Guzmán *et al* 2007).

Con base en lo anterior, y teniendo en cuenta que en el D.C. existen especies vegetales cuyas propiedades medicinales no han sido estudiadas por completo, dentro de la línea de transformación de recursos fitogenéticos del proyecto de Uso sostenible de los recursos vegetales del Distrito Capital y la región del Jardín Botánico José Celestino Mutis, JBJCM, se planteó estudiar y analizar extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies mencionadas con el fin de generar conocimiento en cuanto a las propiedades antimicrobianas frente a los microorganismos patógenos *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Alternaria* sp.

Se estableció usar la técnica de susceptibilidad microbiana para determinar qué extracto presentaba mayor actividad frente a los microorganismos seleccionados y de esta manera contribuir al desarrollo científico de la sociedad mediante el estudio microbiológico de las propiedades terapéuticas de plantas colombianas. Resulta imprescindible descubrir nuevas sustancias con actividad antibiótica frente a microorganismos resistentes y con alta capacidad infectiva, con el fin de aumentar la calidad de vida del hombre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y aceites esenciales obtenidos a partir de las especies vegetales seleccionadas se utilizó la siguiente metodología.

Diseño experimental

El presente trabajo se basó en un estudio experimental cuantitativo que buscó encontrar la mayor actividad antimicrobiana representada en halos de inhibición

que tuvieran los extractos obtenidos. Se determinaron cinco tratamientos diferentes, cada uno con cinco réplicas.

La lectura de los halos de inhibición de la actividad antimicrobiana se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$C = A - B$$

C = tamaño del halo de inhibición (mm)

A = tamaño del halo + disco de papel

B = tamaño del disco de papel

Una vez realizados los ensayos biológicos se determinó el porcentaje de inhibición para cada caso utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{dm \times 100}{dc}$$

dm = promedio del halo de inhibición de la muestra

dc = promedio diámetro del halo de inhibición del control positivo (Alonso, G. N 1996).

Para el análisis de los datos se planteó el siguiente modelo:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Donde y_{ij} es el valor del halo de inhibición en cada observación, μ es la media general, α_i es el efecto del factor A (microorganismo), β_j es el efecto del factor B (extracto utilizado), $(\alpha\beta)_{ij}$ es el efecto de la interacción de los dos factores y ϵ_{ij} es el efecto de error aleatorio. $ij = 5$.

Se plantearon hipótesis para probar los efectos de cada factor y de la interacción de estos. Para los efectos del factor A (microorganismo) se planteó:

$$H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3 = \alpha_4 = \alpha_5 = 0$$

$$H_1: \text{al menos un } \alpha_i \neq 0$$

Para probar los efectos del factor B (extracto) se planteó:

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_4 = \beta_5 = 0$$

$$H_r: \text{al menos un } \beta_i \neq 0$$

Para probar el efecto de la interacción de los factores A y B se planteó:

$$H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0 \text{ para toda } i, j$$

$$H_r: \text{al menos una } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0$$

Obtención de extractos

Tratamiento del material vegetal

Las plantas de las diferentes especies se separaron por partes, se lavaron y se secaron a temperatura ambiente; una vez secas se cortaron con el fin de obtener partículas uniformes para facilitar el proceso de extracción y se pesaron para conocer la cantidad exacta a extraer.

Extracto etanólico

Se recolectó el material vegetal, posteriormente se puso a secar a temperatura ambiente y cuando se secó se disminuyó el tamaño de partícula de forma manual. Para obtener el extracto se adicionó el solvente —etanol al 90 por ciento— y se dejó en maceración fría durante 48 horas. Posteriormente se puso en reflujo tres veces durante 4 horas, se concentró el extracto utilizando el rotavapor y se dejó secando el mismo a temperatura ambiente. Los extractos obtenidos se almacenaron hasta el momento de utilizarlos a 4 °C. (Torres 2007).

Aceite esencial

Con el material vegetal semiseco se realizó una hidrodestilación con arrastre a vapor durante 4 horas utilizando un destilador de aceites esenciales con capacidad de 3 litros (Torres 2007).

Aislamiento de cepas

Patógenas

Se realizó la siembra de los microorganismos en agar Mueller Hinton, los cuales se incubaron a 35 °C durante 24 horas; posterior a esta incubación se sembró cada microorganismo en medio selectivo para cada uno. Para *E. coli*

chromocult para *B. subtilis* (sic). Se realizó la determinación de las características macroscópicas y microscópicas para cada microorganismo realizando coloración de Gram (Torres 2007).

Fitopatógeno

Se realizó la siembra en medio PDA y se incubó a 27 °C durante 3-5 días. Posteriormente se determinaron las características macro y microscópicas realizando coloración con azul de lactofenol (Torres 2007).

Ensayos biológicos

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana

Se utilizó la técnica de difusión de disco en agar de Kirby-Bauer, prueba que permite medir la susceptibilidad *in vitro* de microorganismos patógenos frente a una sustancia o a la mezcla de varias sustancias desconocidas de origen vegetal con potencial antimicrobiano (Torres 2007).

Técnica de difusión de disco en agar

Bacterias

Luego de tener las cepas totalmente aisladas en sus respectivos medios se tomaron por cada microorganismo de 4 a 5 colonias, se pusieron en 5 ml de solución salina al 0,85 por ciento y se ajustaron las concentraciones con el tubo No. 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^6$ UFC). Luego la suspensión se sembró masivamente con escobillón estéril en el agar Mueller Hinton para cada microorganismo. Posteriormente se tomaron los discos de papel estériles a los cuales se les adicionaron 10 µl de cada una de las plantas con una concentración de 30 mg/ml de acetona. El control positivo fue un disco con cloramfenicol (10 mg/ml) y el control negativo fue agua estéril. Se dejó incubando a 37 °C durante 24 horas; luego del período de incubación se realizó la lectura de los halos de inhibición (mm). Todos los ensayos de actividad antimicrobiana se realizaron cinco veces.

Hongos

Se prefirió en este caso el método de crecimiento radial puesto que es el bioensayo más adecuado para hongos de rápido crecimiento. Se utilizó agar PDA, este se incubó a 27 °C de 5 a 10 días. Después de la incubación se añadieron 10 ml de agua destilada para remover las estructuras del hongo,

de allí se tomaron 0,1 ml para realizar siembra masiva con escobillón estéril. Se tomaron los discos de papel estériles a los cuales se les adicionaron 10 μ l de extracto de cada una de las especies vegetales con una concentración de 30 mg/ml de acetona. Se utilizó griseofulvina como control positivo y como control negativo agua estéril. Se dejaron incubando a 27 °C de 3 a 5 días, luego del tiempo de incubación se realizó la lectura de los halos de inhibición (mm). Todos los ensayos de actividad antimicrobiana se realizaron cinco veces.

Levadura

Teniendo la cepa totalmente aislada de *Candida albicans* se tomaron de 4 a 5 colonias y se colocaron en un tubo que contenía 5 ml de solución salina al 0,85 por ciento; se ajustó la concentración con el tubo N° 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^6$ UFC); luego la suspensión ajustada se sembró masivamente con escobillón estéril en agar PDA. Posteriormente se tomaron discos de papel estériles a los cuales se les adicionaron 10 μ l de extracto de cada una de las especies vegetales con una concentración de 30 mg/ml de acetona. El control positivo fue un disco de papel con griseofulvina (10 mg/ml) y el control negativo fue agua estéril.

Ensayo biodirigido

Se realizó un estudio biodirigido al extracto que presentó mayor actividad antimicrobiana, realizando una serie de fraccionamientos utilizando diferentes solventes (diclorometano, alcohol isoamílico y agua) para determinar cuál fracción era la responsable de la actividad antimicrobiana. Se tomó aproximadamente de 0,8 a 1 g de extracto vegetal y se disolvió en agua, se mezcló y se adicionó diclorometano, DCM, esto se agitó en un embudo de decantación y se le sacó el gas abriendo la llave; este proceso se realizó tres veces. Se mantuvo sobre un soporte metálico dejando que se separaran las fases (acuosa – DCM) luego se sacó la fase acuosa en un vaso de precipitado y aparte la fase de diclorometano.

La fase acuosa se volvió a adicionar al embudo de decantación y se agregó alcohol isoamílico, se agitó y se dejó escapar el gas abriendo la llave; este proceso se realizó tres veces. Se dejó sobre el soporte esperando que se separaran las fases (acuosa – alcohol isoamílico); posteriormente se obtuvieron la fase acuosa y la fase de alcohol isoamílico por separado. Al final del procedimiento cada

fase fue secada en el rotavapor para conocer el peso en gramos del extracto de la fracción obtenida.

RESULTADOS

Diseño experimental

En la Tabla 1 se muestra el nivel de significación para los efectos de los dos factores (microorganismo – extracto) y de la interacción.

R Squared = 0,957 (Adjusted R Squared = 0,947).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GI	Cuadrados medios	F	Sig.
MICR	4.783,12	4	1.195,78	222,93	0,000
EXTRAC	3.993,68	4	998,42	186,13	0,000
MICR * EXTRAC	3.260,8	16	203,8	37,99	0,000
Error	536,4	100	5,36		
Total	12.574	124			

Tabla 1. Análisis de varianza para los efectos de dos factores.

Los resultados estadísticos obtenidos para la prueba de comparación de medias de Tukey para los microorganismos seleccionados se muestran en la Tabla 2.

	N	SUBSET			
MICR					
<i>Alternaria</i> sp.	25	4,04			
<i>C. albicans</i>	25	4,64			
<i>S. aureus</i>	25		7,92		
<i>E. coli</i>	25			12,64	
<i>B. subtilis</i>	25				20,76
Sig.		0,89	1	1	1

Tabla 2. Prueba de comparación de medias de Tukey para microorganismos seleccionados.



Por otra parte los resultados estadísticos de la prueba de comparación de medias de Tukey para extractos se muestra en la Tabla 3.

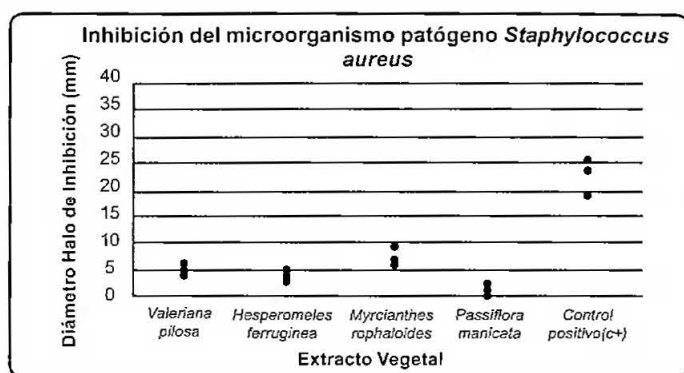
	N	SUBSET			
EXT.					
<i>Hesperomeles ferruginea</i>	25	4,08			
<i>Valeriana pilosa</i>	25	4,6			
<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	25		9,04		
<i>Passiflora manicata</i>	25			13,04	
Control positivo	25				19,24
Sig.		0,93	1	1	1

Tabla 3. Prueba de comparación de medias de Tukey para extractos.

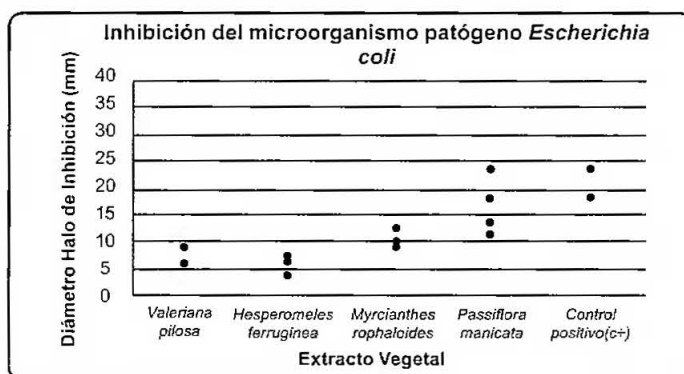
Actividad biológica

Con el diseño experimental utilizado se comparó la capacidad de los extractos vegetales de inhibir la propagación de los microorganismos a través de la prueba de sensibilidad antimicrobiana. En este, la capacidad antimicrobiana fue medida a través del diámetro del halo de inhibición, el cual fue afectado por dos estímulos: el microorganismo y el extracto vegetal, estando este último anidado en el primero, pues la actividad antimicrobiana de varios extractos vegetales fue evaluada simultáneamente sobre un mismo microorganismo.

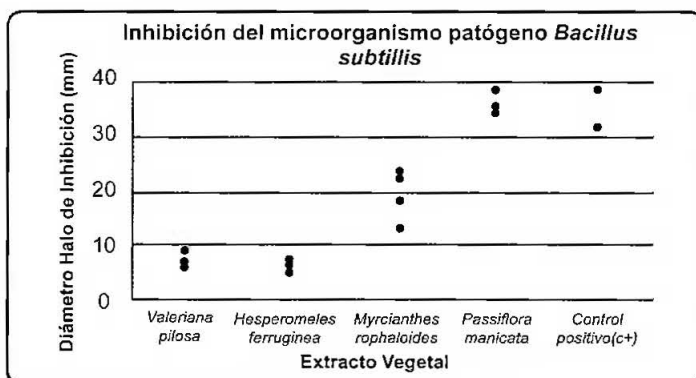
A seguir se muestran cinco gráficos (1 a 6) que describen los resultados del experimento conducido. En todos los casos los puntos representan los diámetros de los halos de inhibición que se obtuvieron en el experimento para cada extracto vegetal considerado.



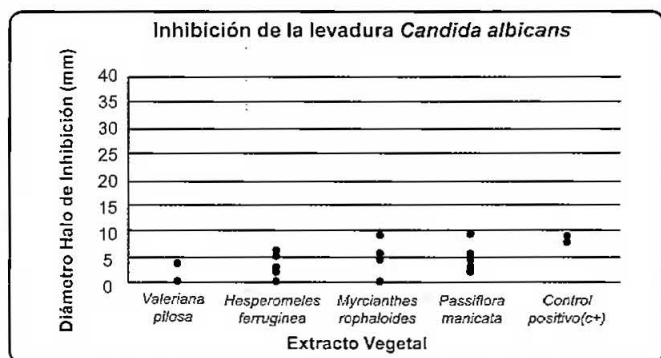
Gráfica 1. Promedio de halos de inhibición (mm) vs Extractos vegetales frente al control positivo para *S. aureus*.



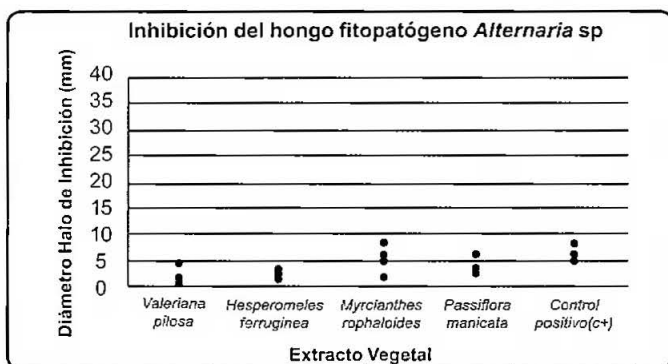
Gráfica 2. Promedio halos de inhibición (mm) vs Extractos vegetales frente al control positivo para *E. coli*.



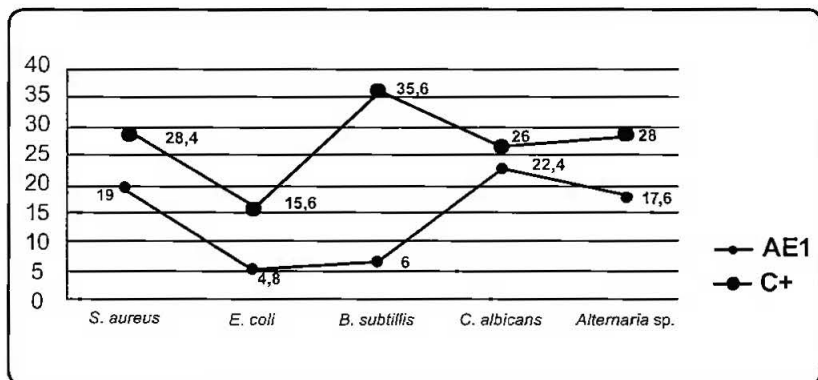
Gráfica 3. Promedio de halos de inhibición (mm) vs Extractos vegetales frente al control positivo para *B. subtilis*.



Gráfica 4. Promedio de halos de inhibición (mm) vs Extractos vegetales frente al control positivo para *C. albicans*.



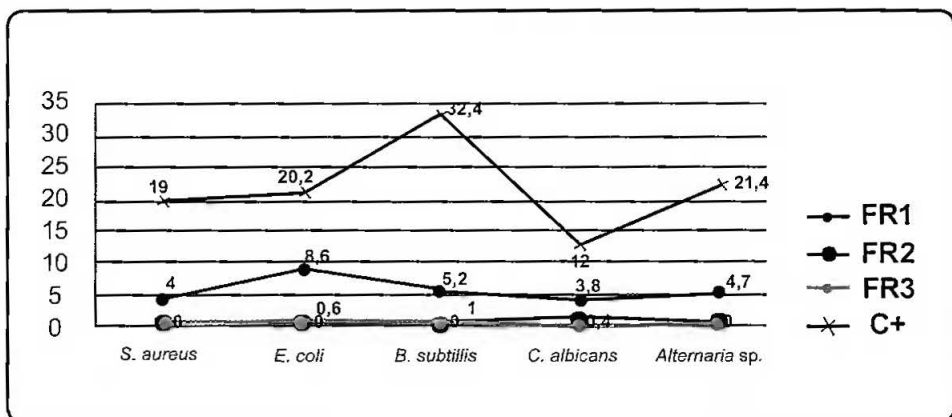
Gráfica 5. Promedio de halos de inhibición (mm) vs Extractos vegetales frente al control positivo para *Alternaria* sp.



Gráfica 6. Resultados obtenidos para los ensayos que se realizaron con el aceite esencial obtenido a partir de las hojas de la especie *Myrcianthes raphaloides*.

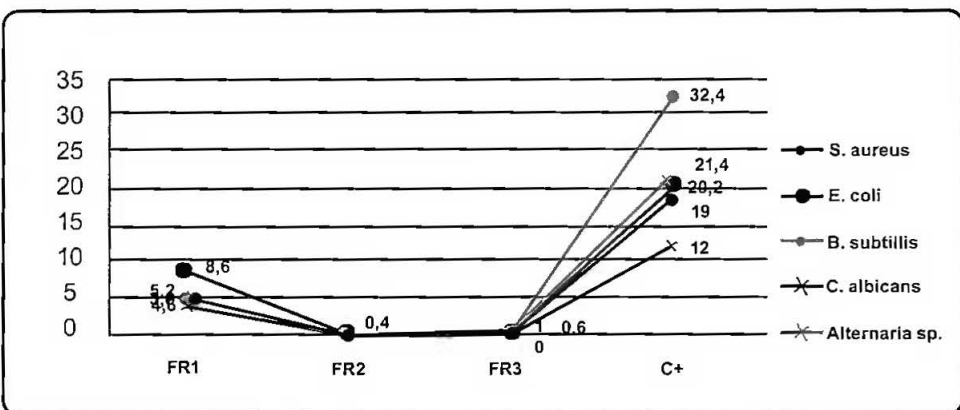
Ensayo biodirigido

Con base en el análisis de los resultados estadísticos se determinó que el extracto más eficiente frente a todos los microorganismos fue el de la especie *Passiflora manicata*, siendo este extracto el candidato para realizar el fraccionamiento para determinar cuál fracción era la responsable de la actividad antimicrobiana (Gráfica 7).



Gráfica 7. Diámetro de halos de inhibición vs Microorganismos seleccionados para las diferentes fases.

En la Gráfica 7 se pueden observar las diferencias entre el diámetro promedio del halo de inhibición del extracto vegetal *Passiflora manicata* en sus tres fases para todos los microorganismos seleccionados.



Gráfica 8. Halos de inhibición vs Fracciones para cada microorganismo.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Es común el empleo popular de partes vegetales con la finalidad de obtener variados efectos medicinales. Varios estudios han comprobado científicamente la eficacia de numerosos casos de tales usos. Entre las variadas aplicaciones terapéuticas de los vegetales se incluyen aquellas con finalidad antimicrobiana (Silva 2000).

Con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a los microorganismos patógenos *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Alternaria* sp. se diseñó un experimento en el que se comparó la capacidad de los extractos vegetales de inhibir el crecimiento de los microorganismos a través de la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana.

El uso de cloramfenicol, Cm, como control positivo se tuvo en cuenta debido a que es un antibiótico de amplio espectro activo *in vitro* contra un gran número de bacterias, previene la formación de enlaces peptídicos y la síntesis proteica en gran variedad de organismos Gram negativos y Gram positivos. La inhibición de la síntesis de proteínas causada por el Cm en la mayoría de los microorganismos susceptibles produce un efecto bacteriostático (Morales *et al* 2007).

La dosis utilizada para los extractos etanólicos de las plantas fue 30 mg/ml, lo cual mostró efectividad pero no se correlaciona con la dosis empleada de los antibióticos (10 mg/ml); esto nos permite inferir que la dosis del extracto no es equivalente en actividad antimicrobiana al antibiótico, ya que la concentración del extracto es tres veces mayor que la del antibiótico.

En este experimento la capacidad antimicrobiana es medida a través del diámetro del halo de inhibición, el cual es afectado por dos factores: el microorganismo y el extracto vegetal, en donde la actividad antimicrobiana de varios extractos vegetales es evaluada sobre los diferentes microorganismos seleccionados.

Diseño experimental

Al observar los resultados descritos en la Tabla 1 se determina que el nivel de significación para los efectos de los dos factores (microorganismo – extracto)

evaluados y su interacción era menor a 0,05, por lo que significa que existen diferencias significativas de los halos de inhibición entre los microorganismos analizados; adicionalmente se presenta un efecto significativo del extracto utilizado sobre el tamaño de los halos de inhibición y un efecto significativo en la interacción microorganismo extracto.

En el caso de la Tabla 2, en donde se describe la prueba de comparación de medias de Tukey, se determinó que *Alternaria* sp. y *C. albicans* fueron los microorganismos que presentaron menores halos de inhibición frente a los extractos evaluados, mientras los otros microorganismos que presentaron halos de inhibición significativamente superiores, en orden de menor a mayor inhibición, fueron *S. aureus*, *E. coli* y *B. subtilis*.

Para la Tabla 3, en la cual se describe la prueba de comparación de medias de Tukey entre extractos, determinó que los extractos de *Hesperomeles ferruginea* y *Valeriana pilosa* presentaron menor efecto inhibidor, pues presentan los menores promedios de tamaño de halo. A diferencia se determinó en la misma prueba que los extractos de *Myrcianthes rhopaloides*, *Passiflora manicata* y control positivo presentan tamaños de halo progresivamente superiores, con diferencias significativas entre sí.

Ensayos biológicos

En la Gráfica 1, en donde se evidencia el promedio de halos de inhibición (mm) vs Extractos vegetales frente al control positivo para *S. aureus*, se observó claramente que el diámetro de los halos de inhibición del extracto vegetal *Passiflora manicata* fue menor al de los demás extractos en presencia del microorganismo *Staphylococcus aureus*, es decir, que el poder inhibidor de este extracto vegetal es mínimo. Se observa también que frente a este microorganismo el extracto que presentó mejor actividad fue el de *Myrcianthes rhopalobides*, el cual estuvo más cercano al valor obtenido para el control positivo.

Las posibles razones para que el crecimiento del microorganismo se viera poco afectado es la existencia de mecanismos de resistencia por parte de *S. aureus*, lo cual está relacionado con la activación de una síntesis de la pared celular, con hiperproducción de proteínas ligadoras de penicilinas, engrosamiento de la pared y encarcelamiento de fármacos por hiperproducción de los componentes de pared (Tavares 2000).

Otros mecanismos que posee la bacteria son la producción de la enzima coagulasa que hace que se deposite el material de fibrina sobre los cocos protegiéndolos del ataque por las células del hospedador, producción de proteasas, nucleasas y lipasas que sirven para despolimerizar las proteínas del hospedador, los ácidos nucleicos y las grasas, el desarrollo de una vía bioquímica resistente la cual puede tener lugar por intercambio genético bloqueando el agente antimicrobiano y por eflujo donde el microorganismo es capaz de bombear hacia afuera el antimicrobiano que va entrando en la célula. Estudios previos han demostrado que *S. aureus* posee genes que le permiten generar resistencia contra biocidas (agentes químicos y antibióticos).

En el caso de la Gráfica 2, en donde se describe el promedio halos de inhibición (mm) vs Extractos vegetales frente al control positivo para *E. coli*, en esta se determina que el poder inhibidor del extracto vegetal *Passiflora manicata* es muy similar al del control positivo (C+), representando una buena actividad antimicrobiana para este. Sin embargo los demás extractos presentaron actividad aunque mucho menor en comparación con el control positivo y con el extracto de *Passiflora manicata*.

E. coli hace parte de las bacterias Gram negativas, además del peptidoglicano, poseen una capa adicional en su pared que está compuesta de lipopolisacáridos. Esta capa representa una segunda bicapa lipídica, que no consta solamente de fosfolípidos como la membrana plasmática sino que contiene polisacáridos y proteínas. Los lípidos y polisacáridos están estrechamente unidos en la capa externa formando estructuras lipopolisacáridas específicas. La presencia del lipopolisacárido justifica que la membrana externa se denomine generalmente capa de lipopolisacárido o simplemente LPS. Los mecanismos de resistencia de estas bacterias pueden presentarse como alteración del sitio blanco o diana de antimicrobianos, disminución de la permeabilidad de la pared por poseer una pequeña capa de péptidoglicano la cual es más sensible, adquisición de mecanismo de eflujo y cambio de vía metabólica externa (Torres 2007).

Los resultados obtenidos en la Gráfica 3, promedio de halos de inhibición (mm) vs Extractos vegetales frente al control positivo para *B. subtilis* determinan que el efecto inhibidor de los extractos es más alto frente a los demás microorganismos, en este caso para *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata*, siendo este último el más cercano al control positivo, es decir, el extracto que tiene mejor poder

inhibidor, cumpliendo un papel importante en el área terapéutica ya que posiblemente puede tener propiedades antimicrobianas en donde especies de su misma familia y género han sido estudiadas preliminarmente por tener principios activos bactericidas.

Bacillus subtilis es un microorganismo competente ya que es capaz de tomar una molécula de ADN y transformarla. En la mayor parte de las bacterias que se pueden transformar naturalmente la competencia está regulada y hay proteínas especiales que juegan un papel en el transporte y procesamiento del ADN. Estas proteínas específicas de competencia incluyen una proteína de unión del ADN que está asociada a la membrana, una autolisina de la pared celular y varias nucleasas (Gutowski-Eckel 1994).

Para este microorganismo la inducción de la competencia depende del medio y de la fase de crecimiento del cultivo, las posibles razones para que los extractos tuvieran un alto poder inhibidor son: 1) es que tan solo cerca del 20 por ciento de las células se hacen competentes y se mantienen por horas en este estado y 2) la formación de esporas bacterianas las cuales aparecen cuando cesa el crecimiento por falta de nutrientes esenciales como el nitrógeno y el carbono proceso que solo dura 8 horas.

Además *B. subtilis* produce subtilicina, un antibiótico en el que su biosíntesis es regulada de manera dependiente a la fase de crecimiento, iniciando su producción durante la fase media a la fase tardía de crecimiento logarítmico y alcanzando la máxima producción en la fase estacionaria temprana (Gutowski-Eckel 1994).

Los resultados representados en las Gráficas 4 y 5 determinan que la levadura y el hongo evaluados no fueron inhibidos por ninguno de los extractos vegetales, incluido el control positivo (C+), se lograron generar halos con diámetros superiores a 10 mm, lo que indica que los extractos vegetales no presentaron una actividad antimicrobiana eficiente bajo las condiciones evaluadas en el presente trabajo.

En general las bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis* y *S. aureus*) fueron más resistentes que la bacteria Gram negativa (*E. coli*) la cual fue más sensible frente a este, pudiendo tener su causa en la diferencia que presentan estas bacterias en

cuanto a su pared celular, lo cual determinará la penetración o no del terpenoide a la célula bacteriana para que produzca su acción. Esta molécula según estudios reportados hace parte de los aceites esenciales de plantas (Maguna 2006).

Uno de los principales mecanismos de acción propuestos para los terpenoides consiste en la disrupción de la membrana celular bacteriana mediante tres posibles vías: aumentando la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectando la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, cualquiera de estos tres efectos produce la muerte en la célula bacteriana (Maguna 2006).

Entonces podríamos considerar que el hecho de que las bacterias Gram negativas presenten mayor sensibilidad, entre otras cosas, puede deberse a su pared celular menos compleja dado que tiene una capa simple —red de mureína delgada—, mientras que en las Gram positivas es una estructura de multicapa —red de mureína muy desarrollada y llega a tener hasta 40 capas— (Maguna 2006).

Finalmente en la Gráfica 6 se describieron los resultados obtenidos para los ensayos que se realizaron con el aceite esencial obtenido a partir de las hojas de la especie *Myrciastes rhopaliodes*, se determinó que el microorganismo que mejor se comportó frente al aceite esencial fue *Candida albicans*.

Ensayo biodirigido

Con base en el análisis de los resultados estadísticos se determinó que el extracto más eficiente frente a todos los microorganismos evaluados fue el de la especie *Passiflora manicata*, siendo este extracto el candidato para realizar el fraccionamiento para determinar cuál fracción era la responsable de la actividad antimicrobiana. De acuerdo con los resultados descritos en la Gráfica 7 se aprecian las diferencias entre el diámetro promedio del halo de inhibición del extracto vegetal *Passiflora manicata* en presencia de los microorganismos seleccionados para cada una de las fases (FR1, FR2, FR3). Se observa que el comportamiento del halo de inhibición en FR2 y FR3 del extracto vegetal es muy similar. También se observa que el diámetro del halo de inhibición en FR1 del extracto vegetal es más parecido al halo del control positivo (C+) en comparación a las otras dos fases.

Las tres fases evaluadas (FR1, FR2, FR3) están organizadas de acuerdo con la polaridad de cada solvente, es decir, de mayor a menor polaridad. Donde FR1 es una mezcla de compuestos de alta polaridad en los cuales posiblemente se pueden encontrar taninos, proteínas hidrosolubles y azúcares. De esta manera en la fase FR1 se observaron halos de inhibición superiores a los de las demás fases indicando que en ella quizás se encuentra la molécula responsable del principio activo. La fracción FR2 fue la que obtuvo el menor rendimiento en la evaluación antimicrobiana para el extracto vegetal de *Passiflora manicata*.

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de hojas de *Passiflora manicata* reveló la mayor actividad antimicrobiana contra los microorganismos seleccionados, siendo *Bacillus subtilis* el microorganismo con los valores más altos de inhibición.

Los microorganismos Gram positivos evaluados fueron más sensibles al poder inhibidor de los extractos etanólicos, siendo los hongos los que mostraron más resistencia.

La fase acuosa del extracto etanólico crudo de las hojas de *Passiflora manicata* mostró mayor actividad antimicrobiana con todos los microorganismo seleccionados en comparación con la fase de diclorometano y la fase de alcohol isoamílico evaluada.

El aceite esencial obtenido de las hojas de *Myrcianthes rhopaloides* presentó mayor actividad antimicrobiana obtenida frente a los microorganismos evaluados.

El extracto etanólico obtenido de *Passiflora manicata* puede constituirse en una fuente de principios activos que contribuyan al descubrimiento de antimicrobianos de origen natural los cuales pueden ser utilizados como línea base para la síntesis de moléculas útiles a nivel farmacéutico.

El estudio realizado permitió conocer algunas de las potencialidades de uso de las especies *Passiflora manicata*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Valeriana pilosa* presentes en los ecosistemas del Distrito Capital y la región contribuyendo al aumento del conocimiento de las mismas.

Recomendaciones

Identificar, separar y elucidar la molécula presente en la fase acuosa del extracto crudo de *Passiflora manicata* responsable de la actividad antimicrobiana reportada en el presente trabajo, con el fin de generar alternativas para la obtención de nuevos antimicrobianos de amplio espectro a partir de una fuente de origen natural.

Realizar estudios *in vivo* con el fin de determinar la concentración inhibitoria mínima de la fase acuosa con el objetivo de utilizar el extracto obtenido en la formulación de nuevos productos con potencial biocida.

Realizar estudios *in vivo* con el fin de determinar la estabilidad del extracto obtenido frente a agentes físicos y químicos que puedan interferir en la actividad antimicrobiana descrita en el presente trabajo.

Agradecimientos

Al Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis por facilitar materiales y equipos para el desarrollo de este trabajo.

Al equipo de trabajo de las instalaciones de Subdirección Científica por su colaboración, paciencia y dedicación para la culminación del trabajo de grado.

A Freddy Alejandro Ramos por la transmisión de sus conocimientos y de seguridad.

Al doctor Alberto Gómez Mejía por su confianza y apoyo incondicional.

A Héctor Lancheros por su contribución a la realización de este estudio aportando su orientación estadística en la elaboración y discusión del trabajo de grado.

Al profesor Miguel Pinzón por su compromiso y conocimientos estadísticos.

Bibliografía

- Arévalo A., M. y A. Enciso R. 1996. *Determinación de la actividad antimicrobiana (bacterias, hongos y levaduras) de algunas especies de Espeletias encontradas en el páramo de Guasca*. Carrera Bacteriología. Facultad Ciencias Básicas. Departamento Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo de Pregado. Bogotá, D.C. Pág. 14,16-18, 21-25.
- Ayala S., M. C. y B. de L. Buzzi A. 1998. *Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de la raíz de Pentacalia corymbosa (Beth) Cuatr. contra Alternaria sp., Trichoderma viride y Fusarium oxysporium*. Carrera Bacteriología. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo de Pregado. Bogotá, D.C. Pág. 9, 10.
- Barreto B., J. F. 1997. *Efectos antimicrobianos del diente de león (Taxaxacum officinale) y el gualanday (Jacaranda obtusifolia) sobre Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa causantes de enfermedades de la piel*. Carrera Bacteriología. Facultad Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo de Pregrado. Bogotá, D.C. Pág. 9, 23-29.
- Bauer A. W., K. W. M. M., J. C. Sherris & M. Turck. 1966. *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method*. Amer. J. C/in. Pathol. 45: 493-6, [Depts. Microbiology and Medicine, Univ. Washington, Sch. Med., Seattle. WAI.
- Cardozo, R. H. 2005. *Investigación básica y aplicada en el aprovechamiento de recursos biogenéticos de la flora del altiplano cundiboyansense que poseen proyección agroalimentaria*. Informe Inédito. Jardín Botánico José Celestino Mutis.
- Domingo, D. y M. López-B. 2003. *Plantas con actividad antimicrobiana*. Rev. Esp Qimioterap. España. 16(4): 385 – 393.
- Gutowki-E., Z.; C. Klein-C.; K. Siegers-K.; K. Bohm; M. Hammelanm; K. Entian. 1994. *Growth phase-dependt regulation and membrane 15 localization of spab, a protein involved in biosynthesis of lantibiotic subtilin*. Appl. enron. microbiol. 60:1-11.
- Guzmán-C., Córdoba-S., Zúniga-U., Torres-C., Pérez-B., Pacheco-R., Mesa-L., Córdoba-C. 2007. *Especies útiles en la región Andina de Colombia*. Tomo 1. En imprenta. Jardín Botánico José Celestino Mutis. Bogotá. 243.

- Jardín Botánico José Celestino Mutis Bogotá. 2006. *Ficha técnica: especies promisorias proyecto de uso sostenible de los recursos vegetales del Distrito Capital y la región*. Bogotá, D.C. Colombia.
- López B., L. A.; A. A. Pérez L. 2001. *Aplicación del test bioautográfico para la determinación de actividad antifúngica y antibacteriana*. Carrera Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo de Pregrado. Bogotá, D.C. Pág. 10, 11.
- Lizcano, A. & Vergara, J. 2008. *Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies vegetales Valeriana Pilosa, Hesperomeles ferruginea, Myrcianthes rophaloides y Passiflora manicata frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos*.
- Maguna, F. P.; A. M. Romero; O. A. Gharro; N. Okulik. 2006. *Actividad antimicrobiana de un grupo de terpenoides*. Resumen O57 No. 355 Argentina. Universidad Nacional del Nordeste.
- Manrique, E. y O. Mosquera. 1997. *Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos y fracciones obtenidas a partir de Espeletia murilloi cuatr. y Espeletopsis guacharaca*. Carrera Bacteriología. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo de Pregrado. Bogotá, D.C. Pág. 15, 16.
- Morales-E., Y; M. del C. Herrera; J. Muñoz-R. 2007. Cloranfenicol, un antibiótico clásico como alternativa en el presente. Rev. Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Méjico, D.F. 38(001): 58-69.
- Rangel-Ch., J. O. (Ed.). 2000. Colombia diversidad biótica III: la región de vida paramuna. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C.
- Ruiz-G. M. C., C. M. Susunaga-S. 2000. *Actividad antimicrobiana presente en partes aéreas de las especies Bursera simaoruba y Bursera graveolens (Burseraceae) frente a microorganismos como Agrobacterium tumefaciens, Erwinia carotovora, Fusarium oxysporum, Trichoderma viride y Botrytis cinerea*. Carrera Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Departamento Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo Pregrado. Bogotá, D.C. Pág. 40.
- Scherriber, K.; O. Aurich; G. Oskke. 1963. *Solanum alkaloiden XVIII*. Dunnschicht chromatographie von solanm – seroidalkaloiden und steroidsapogeninen. J. chromatogr. 12, 63 – 69 (R 2.12 2.15).

- Steyermack, A.** 1978. *Flora y vegetación de las montañas de Ávila, de la Silla y del Naiguatá*. Ministerio del Medio Ambiente y los Recursos Naturales Renovables. Caracas. Venezuela. Pág. 866.
- Tavares, W.** 2000. *Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos*. Rev. da. Sociedade brasileira de Medicine Tropical. Río de Janeiro. 33(3).
- Torres, C. M.** 2004. *Investigación en la transformación secundaria de frutos, tubérculos, flores, hojas o tallos de especies pertenecientes a ecosistemas andinos*. Informe Técnico. Jardín Botánico José Celestino Mutis – Subdirección Científica. Bogotá, D.C. Pag. 2-14.
- , 2007. *Investigación en procesos de transformación de sustancias de interés presentes en hojas, tubérculos, semillas y frutos de especies andinas, para generar productos agroindustriales que pueden ser destinados a nivel industrial, medicinal o alimenticio*. Segundo Informe Técnico. Jardín Botánico José Celestino Mutis – Subdirección Científica. Bogotá, D.C.