



**BIOPROSPECCIÓN EN COLOMBIA: actividad antimicrobiana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*, como modelo de análisis**

Cristian Nicolás Rodríguez Pava

Estudiante Maestría en Biociencias y Derecho

Asesor Externo:

MSc. Ligia Consuelo Sánchez Leal -Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Asesor Interno:

MSc Sandra Consuelo Henao Riveros

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Derecho, Ciencias Política y Sociales

Maestría en Biociencias y Derecho

Bogotá, D.C., Colombia 2023

**BIOPROSPECCIÓN EN COLOMBIA: actividad antimicrobiana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*, como modelo de análisis**

Cristian Nicolás Rodríguez Pava

Estudiante Maestría en Biociencias y Derecho

Asesor Externo:

MSc. Ligia Consuelo Sánchez Leal -Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Asesor Interno:

MSc Sandra Consuelo Henao Riveros

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Derecho, Ciencias Política y Sociales

Maestría en Biociencias y Derecho

Bogotá, D.C., Colombia

2023

## **DEDICATORIA**

A mi familia, en especial a mis padres y abuelos que me han apoyado durante toda mi vida, aunque algunos no estén presentes siempre los recordaré con el mayor cariño en cada paso que dé en mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, en especial al grupo de investigación CEPARIUM y la profesora Ligia Consuelo Sánchez por brindarme las herramientas y para lograr culminar este proyecto de investigación.

A la profesora Sandra Consuelo Henao Riveros por su apoyo y simpatía durante mi trabajo en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia

A Andrés Gabriel Zarate por su apoyo durante la ejecución de este proyecto

A Marcela Castaño Rodríguez por su amistad y enseñanza en momentos más difíciles

A Yeison Stid Torres Rodríguez, Cristhian Felipe Vargas Lozano, Paula Liliana Zamora Lozano, Maria Alejandra Cavides Cardozo, Daniela Cruz García, Ivonne Nathaly Hurtado Triana, Nelson Fabián Muñoz Suescun por su aporte intelectual y su contribución en el desarrollo del proyecto Macro del grupo de investigación Ceparium, con lo cual se construye este documento

<b>TABLA DE CONTENIDO</b>	<b>Pág.</b>
RESUMEN.....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE TABLAS.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	8
OBJETIVOS.....	9
CAPÍTULO I ESTADO DEL ARTE.....	10
1. BIOPROSPECCIÓN.....	10
2. SOSTENIBILIDAD.....	14
3. DESARROLLO SOSTENIBLE EN COLOMBIA.....	18
4. RESISTENCIA Y POTENCIAL DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PLANTAS.....	26
5. <i>Eichhornia crassipes</i> (mart) Solms y <i>Lemna spp</i> .....	29
CAPÍTULO II MARCO TEORICO.....	37
1. BIOPROSPECCIÓN.....	37
2. ESPECIES VEGETALES.....	41
2.1. <i>Eichhornia crassipes</i> (mart) Solms.....	41
2.1.1. TAXONOMÍA.....	42
2.1.2. CONDICIONES EDAFOCLIMATICAS.....	42
2.1.3. PROBLEMA DE BIOMASA DE <i>Eichhornia crasipes</i> Y ALTERNATIVAS DE SOLUCION.....	42
2.2. <i>Lemna gibba</i> .....	43
2.2.1. TAXONOMÍA.....	44
2.2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	44
2.2.3. CONDICIONES EDAFOCLIMATICAS.....	45
2.2.4. PROBLEMA DE BIOMASA DE <i>Eichhornia crasipes</i> Y ALTERNATIVAS DE SOLUCION.....	46
3. ANTIBIOTICOS.....	47
3.1. ANTIBIOTICOS MAS USADOS EN COLOMBIA.....	50
4. RESISTENCIA BACTERIANA.....	50
4.1. PRINCIPALES MECANISMOS DE RESISTENCIA MICROBIANA.....	51
4.2. SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS PROCEDENTES DE PLANTAS COMO RESPUESTA A LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA.....	53
5. EXTRACTOS VEGETALES.....	57
5.1. EXTRACCIÓN FITOQUÍMICA.....	58

5.2.	TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS.....	58
5.2.1.	ROTAEVAPORACIÓN.....	59
5.2.2.	PERCOLACIÓN EN FRÍO.....	59
5.2.3.	DESTILACIÓN.....	60
6.	MÉTODOS PARA VALORAR LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE COMPUESTOS AISLADOS EN PLANTAS.....	60
6.1.	MÉTODO POR DILUCIÓN EN TUBO.....	61
6.2.	MÉTODO POR MICRODILUCIÓN.....	61
6.3.	MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO.....	62
6.4.	MÉTODO E TEST.....	62
7.	VALORACIÓN AMBIENTAL.....	63
CAPÍTULO III METODOLOGÍA.....		66
1.	RECOLECCIÓN Y CLASIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.....	67
1.1	SECADO Y MOLIENDA.....	67
2.	PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS ORGÁNICOS.....	68
3.	ENSAYOS ANTIMICROBIANOS.....	69
3.1.	CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS.....	70
3.2.	PREPARACIÓN DE LOS SENSIDISCOS PARA VALORA LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.....	71
3.3.	INOCULACIÓN Y SIEMBRA.....	71
3.4.	CONTROLES DE PRUEBAS.....	72
3.5.	CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA.....	73
4.	VALORACIÓN ECONÓMICA AMBIENTAL.....	75
5.	ANÁLISIS DE APLICACIÓN Y DE MERCADO.....	76
6.	TRANSFERENCIA DE CONOCIMIENTO Y TECNOLOGÍA.....	76
CAPÍTULO IV RESULTADOS.....		78
CAPÍTULO V DISCUSIÓN .....		100
CAPÍTULO VI CONCLUSIONES .....		108
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		110
ANEXOS.....		128

## RESUMEN

### **BIOPROSPECCIÓN EN COLOMBIA: actividad antimicrobiana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*, como modelo de análisis**

El desarrollo actual en busca de nuevos fármacos que mitiguen la alta resistencia de los microorganismos frente a medicamentos actuales en el mercado, ha llevado a que se prueben y utilicen los metabolitos de origen natural como una alternativa para este problema y entre las especies actualmente más investigadas se encuentran las plantas; la utilización y conservación de las especies naturales sin duda ha tenido mayor relevancia en las últimas décadas, colocando en evidencia la necesidad geopolítica, económica y social de establecer parámetros de manejo de las especies, los recursos genéticos y biológicos de origen, el objetivo de este estudio es analizar desde la bioprospección, el uso de las plantas buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) y lenteja de agua (*Lemna gibba*) en la búsqueda de sustancias antimicrobianas. La metodología incluyó la preparación del material vegetal, la obtención de los extractos alcohólicos, las pruebas antimicrobianas se realizaron por la técnica difusión en disco y micro dilución para hallar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), adicionalmente se realizó un ejercicio teórico de bioprospección que incluye la valoración económica ambiental, análisis de aplicación y de mercado y transferencia de conocimiento y tecnología. En los ensayos de actividad antimicrobiana se demostró que si existe un potencial biotecnológico y con el ejercicio teórico se demuestra que puede usarse con fines industriales y económicos que tenga en cuenta la sostenibilidad y el desarrollo comunitario. Es necesario ejecutar futuros proyectos y ensayos que profundicen la interacción extracto-microorganismo y se integre estudios de factibilidad y de transferencia tecnológica a la población.

**Palabras clave:** Resistencia bacteriana, extractos en plantas, antimicrobianos, bioprospección, biodiversidad, política, sostenibilidad y medio ambiente

## **ABSTRACT**

### **BIOPROSPECTING IN COLOMBIA: antimicrobial activity of *Eichhornia crassipes* and *Lemna gibba*, as an analysis model.**

The current development in search of new drugs that mitigate the high resistance of microorganisms against current drugs on the market, has led to the testing and use of metabolites of natural origin as an alternative for this problem and among the currently most investigated species. plants are found; the use and conservation of natural species has undoubtedly had greater relevance in recent decades, highlighting the geopolitical, economic and social need to establish management parameters for species, genetic and biological resources of origin, the objective of this study is to analyze from bioprospecting, the use of the water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and gibbous duckweed (*Lemna gibba*) in the search for antimicrobial substances. The methodology included the preparation of the plant material, the obtaining of the alcoholic extracts, the antimicrobial tests were carried out by the disk diffusion technique and micro dilution to find the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), additionally a theoretical bioprospecting exercise was carried out that includes environmental economic valuation, application and market analysis and transfer of knowledge and technology. In the antimicrobial activity tests it was shown that there is a biotechnological potential and with the theoretical exercise it is shown that it can be used for industrial and economic purposes that take into account sustainability and community development. It is necessary to carry out future



projects and tests that deepen the extract-microorganism interaction and integrate feasibility studies and technology transfer to the population.

**Keywords:** Bacterial resistance, extracts in plants, antimicrobials, bioprospecting biodiversity, politics, sustainability, and environment.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 Definición de bioprospección según diversos autores

Figura 2 Alcance de la valoración económica ambiental tomado de guía de aplicación de la valoración económica ambiental del Ministerio de Ambiente

Figura 3 Metodología técnica para la identificación del potencial antimicrobiano

Figura 4 Proceso de filtrado mediante sistema al vacío

Figura 5. Esquema del proceso para la preparación de los sensidiscos utilizados para evaluar las concentraciones de los extractos de las plantas en los ensayos antimicrobianos.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía *Eichhornia crassipes*

Tabla 2. Taxonomía *Lemna gibba*

Tabla 3. Protocolo de Extracción de extracto por uso

Tabla 4. Microorganismos y su origen evaluados

Tabla 5. Fases de Valoración económica y etapas

Tabla 6. Etapas de Análisis de Aplicación y de mercado

Tabla 7. Etapas y ejecución de la transferencia de conocimiento

Tabla 8. Inhibición de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia clínica humana por Difusión en Disco

Tabla 9. Antibióticos de control utilizado en la prueba de Difusión en Disco de patógenos de origen humano

Tabla 10. CMI de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia clínica humana

Tabla 11. Inhibición de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia animal por Difusión en Disco

Tabla 12. Antibióticos de control utilizado en la prueba de Difusión en Disco de patógenos de origen animal

Tabla 13. CMI de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia de origen animal

Tabla 14. Inhibición de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia vegetal por Difusión en Disco

Tabla 15. CMI de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia de origen vegetal

Tabla 16. Primera fase de valoración ambiental “Fase de identificación y caracterización”

Tabla 17. Segunda fase de valoración ambiental “Fase de selección de la metodología de evaluación”

Tabla 18. Tercera fase de valoración ambiental “Fase de aplicación de la metodología de valoración y estimación del valor”

Tabla 19. Desarrollo de las Etapas de Análisis de Aplicación y de mercado

Tabla 20. Desarrollo y ejecución de la transferencia de conocimiento

## INTRODUCCIÓN

Profesionales de diversas disciplinas están realizando en forma permanente investigaciones dirigidas a buscar nuevas sustancias con efecto terapéutico para varias enfermedades. Buena parte de estas terapias, están dirigidas a encontrar nuevos antimicrobianos que mejoren o reemplacen las existentes, debido a la creciente resistencia que presentan los patógenos bacterianos que afectan al hombre, a los animales y a las plantas. En el área de salud pública, el impacto que tiene, está relacionado con la calidad de vida de las personas en términos de sanidad y también en el costo-beneficio que implica tratar estas patologías (Köser, 2012).

El problema de la resistencia de patógenos en humanos, ha sido tratado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), quien se ha pronunciado en diferentes momentos, ha diseñado normativas y establecido programas para combatir este problema. En un comunicado emitido en el año 2001 denominado “Estrategia Mundial para contener la Resistencia a los antimicrobianos” (OMS, 2001), cita que la resistencia afecta los costos de la atención en salud en todo el mundo y resalta la importancia de tener en cuenta que las tasas de resistencia son diferentes según la región, razón por la cual las estrategias no pueden ser únicas, en el año 2015 se creó un plan de acción contra la resistencia a los antimicrobianos denominada RAM en el que se establecen cinco objetivos vitales en el cumplimiento del programa, estos se enmarcan en la educación y comprensión de la problemática a través de la vigilancia y la investigación, donde además se priorice el uso óptimo de los

agentes antimicrobianos y se creen programas económicos que busquen una inversión sostenible y aumente la inversión en medicamentos nuevos, métodos de diagnóstico eficaces, vacunas y otras intervenciones que ayuden a controlar esta problemática (OMS,2015). Año tras año se actualiza este programa y se crean nuevos programas y nuevas inversiones como la alianza mundial para la investigación y desarrollo de antibióticos que busca para el 2023 desarrollar y distribuir por lo menos 4 antibióticos existentes y hacer más rápida la entrada de nuevos antibióticos (OMS,2020). Adicionalmente, este organismo se ha pronunciado en la repercusión que tiene sobre la Salud Humana el uso de alimentos como la carne, los lácteos en donde están presentes patógenos resistentes que incluso pueden derivar en demandas por alimentos contaminados por diversas condiciones socioeconómicas en el mundo entero, la dificultad para establecer costos exactos, por la multiplicidad de factores que involucra la resistencia bacteriana, también consideran que una de las estrategias, es apoyar programas de investigación para encontrar nuevos antibióticos que amplíen la oferta de los existentes y que por lo tanto es necesario apoyar económicamente estudios dirigidos a nuevos medicamentos y nuevas formas de combatir la RAM.

No es fácil calcular el costo de la resistencia bacteriana en países en desarrollo, Jorgensen en 1997, establece que el valor aproximado podría estar entre los cien millones y treinta billones de dólares anualmente teniendo en cuenta solo dos aspectos, las estancias prolongadas de pacientes en los centros hospitalarios y la necesidad de usar antibióticos cada vez más potentes los cuales pueden ser más tóxicos, agresivos y costosos (Jorgensen, 1997). Aunque no es tarea fácil establecer

costos relacionados con la resistencia, se deben considerar diferentes aspectos para determinar los costos y se debe realizar un estudio costo-beneficio por la cantidad de variables que implica la resistencia microbiana; algunas de las variables que se deben tener en cuenta para calcular el costo en el tratamiento de una infección son las características individuales de cada paciente o comunidad, el tipo de infección, naturaleza del patógeno y mecanismos de resistencia del microorganismo (Grau, 2017).

Sobre los datos en Colombia, específicamente en Bogotá, la Secretaria Distrital de Salud a través del grupo de Resistencia Bacteriana (Ministerio de Protección Social, Colombia) y el Grupo para el Control de la Resistencia Antimicrobiana en Bogotá GREBO, en el Boletín 11 de 2018 (Grebo, 2018) identifican los microorganismos de mayor aislamiento intrahospitalario y sus patrones de resistencia a los antibióticos; en este grupo de bacterias reportadas se encuentran entre las Gram negativas *E. coli*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* y entre las Gram positivas, *S. aureus* y *E. faecium*.

Así como sucede en las infecciones en humanos, las enfermedades en animales producidas por bacterias son un verdadero problema porque hay varias de ellas que se comparten entre humanos y animales, el caso más reportado en la literatura relacionado con genes de resistencia bacteriana es el de *Staphylococcus aureus* (Wendlandt, 2015) con evidencia de multirresistencia. Otro caso reconocido en el área veterinaria es la resistencia de *E. coli* en perros, gatos y animales de cría que son utilizados como mascotas; aunque en el hombre esta bacteria hace parte de la flora intestinal, *E. coli* puede causar enfermedades intra y extra intestinales

evidenciando altos niveles de resistencia a los antibióticos, como es el caso de las infecciones urinarias en humanos (Leite, 2014).

Con relación a los animales en campo, cerdos, aves, y bovinos el mayor problema es la residualidad en ellos y en suelo donde se incorpora por la rizosfera a la planta; investigadores están trabajando para demostrar que la cadena alimenticia puede ser una de las causas de resistencia bacteriana en animales y humanos; el consumo de plantas y carne con esa residualidad puede ser un determinante de genes de resistencia bacteriana. Este fenómeno puede ser uno de los factores de multiresistencia de los patógenos humanos (Jechalke, 2014). Por otra parte, Forsberg (Forsberg, 2014) está investigando sobre genes de resistencia presentes en el suelo y su similitud con los genes de resistencia de los patógenos humanos o “resistomas” (Forsberg, 2014). De ahí la importancia de que los estudios no solo se realicen con patógenos humanos, sino también con patógenos animales y de plantas, por eso se incluyen bacterias de las tres procedencias.

En el área agrícola, la situación es también crítica por parte de patógenos de plantas debido al manejo indiscriminado de agroquímicos lo que aumenta constantemente la resistencia a biocidas y antibióticos que controlan los patógenos y a su vez, se pierde un buen número de microorganismos benéficos que le proveen a la planta un nivel de resistencia. A diferencia de la salud humana o veterinaria, la sanidad de las plantas se traduce en ganancias para el productor. Muchos cultivos en Colombia, de exportación y consumo interno tienen problemas bacterianos y no es fácil su tratamiento, las pérdidas pueden oscilar entre el 50 y 80% en caso de una epifítia grave e incluso llegar al 100% que equivale a la pérdida total para el agricultor. Tres

casos específicos de resistencia bacteriana en plantas en Colombia han sido reportados y que son de interés de los grupos de investigación; el primero en Pasifloras, específicamente en Gulupa y maracuyá por el ataque de *Xanthomonas* (Farfan, 2014); la presencia de *Erwinia* en papa (ICA, 2011) una bacteriosis que se manifiesta en forma agresiva en época de lluvias y *Burkholderia glumae* una bacteria que se introdujo a Colombia en semillas de arroz desde Asia y tiene afectados a los productores en varias regiones del país (Pérez, 2011).

Las razones para investigar en nuevas alternativas antibacterianas están plenamente justificadas y las plantas que contienen diversos metabolitos son una excelente alternativa por la variedad y cantidad que ofrecen pues son productos naturales que podrían disminuir la incidencia de las enfermedades que producen las bacterias patógenas (Parekh, 2006; Shanabm, 2010).

Estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), Comunidad Andina de Naciones (CAN) y la Universidad Nacional de Colombia (Roca, 2004), entre otros estamentos nacionales e internacionales (OMS, 2001), establecen que mediante la bioprospección y aprovechando los recursos naturales en Colombia se pueden diseñar alternativas de nuevos fármacos de origen natural, los cuales serían utilizados para mitigar la problemática de resistencia microbiana y a la vez permitan la conservación ambiental de los micro y/o macro organismos que pudieran ser utilizados para este fin (Duarte, 2006). Entre los organismos más investigados con fines de bioprospección se encuentran las plantas (Lagoudakis, 2012), las cuales tienen sustancias que han demostrado su capacidad de inhibir el crecimiento *in vitro* de patógenos y muchas de ellas son usadas en la medicina tradicional para tratar



diversas infecciones (Rojas, 2010). Los investigadores han llegado incluso a identificar proteínas blanco que aparecen específicamente cuando se hacen tratamientos con extractos de plantas (Yong, 2014).

*Eichhornia crassipes* ha sido ensayada como antibacteriano y antifúngico (Shanabm, 2010). En el caso de *Lemna gibba*, ha sido más investigada por su capacidad para procesos de biorremediación por ser un potente bioacumulador de cromo, cadmio, cobre, níquel, plomo y selenio (Duman, 2010). Algunas especies de *Lemna* spp. se han descrito como plantas con efectos fungicidas, propiedades inmunomoduladoras, antioxidantes y ampliamente utilizada como materia prima para la producción de analgésicos y remedios antipiréticos (Gülçin, 2010).

Las plantas escogidas para el presente proyecto se seleccionaron porque están clasificadas como “indeseadas” para los agricultores, pues invaden los cuerpos hídricos por su rápida reproducción, disminuyendo el nivel de oxígeno del agua, alterando la calidad del agua y composición microbiana de las reservas acuáticas (Fuentes, 1991). Su tasa de crecimiento y reproducción es muy alta y por tal motivo puede afectar los cuerpos de agua; al crecer en la superficie del agua de manera descontrolada, evita el paso de la luz solar interfiriendo con los procesos fotosintéticos de algas y fitoplancton que allí se encuentran, deteriorando de esta forma la calidad del agua (Plaza, 2009) por lo que su biomasa abundante podría convertirse en amplia fuente de recurso.

Realizar bioprospección con este tipo de organismos abre sin duda un tipo de discusiones de tipo social y ambiental en las cuales se debe analizar todas las determinantes y problemáticas que puedan surgir al utilizar este recurso genético.

## **HIPÓTESIS**

Es viable el uso industrial y comercial de plantas consideradas arvenses *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* que poseen un potencial antimicrobiano desarrollándolo desde una perspectiva sostenible

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General:**

Analizar desde la bioprospección, el uso de las plantas buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) y lenteja de agua (*Lemna gibba*) en la búsqueda de sustancias antimicrobianas.

### **Objetivos Específicos**

- Identificar el potencial antimicrobiano de los extractos de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* frente a un panel de microorganismos.
- Realizar un análisis bioprospectivo general que incluya un acercamiento inicial y un ejemplo de valoración económica, análisis de aplicabilidad transferencia de conocimiento y tecnología del posible uso comercial de las plantas macrófitas *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* que posean actividad antimicrobiana.

## **CAPÍTULO I. ESTADO DEL ARTE**

### **1. BIOPROSPECCIÓN**

En Colombia y según lo establecido en la Constitución Política de 1991 la responsabilidad del manejo de los recursos naturales dentro y fuera del territorio nacional está directamente bajo el mandato del estado, convirtiéndose en el único autorizado para suministrar, dar los permisos de uso y aprovechamiento de estos recursos; adicionalmente, dando cumplimiento a las disposiciones internacionales como el protocolo de Río de 1992, el acuerdo de Escazú entre otros, que reconocen la protección del medio ambiente como un derecho y establecen disposiciones y deberes que buscan la protección de la diversidad biológica presente en los diversos ecosistemas que componen el ambiente, con el único fin de que exista una sostenibilidad entre el consumo de los bienes y su regeneración permitiendo un balance en la habitabilidad del ecosistema (Díaz, 2019).

Según varios autores, la bioprospección se define como el desarrollo a partir de la investigación de la biodiversidad de nuevos descubrimientos con valor social y comercial (Beattie et al, 2011), y el descubrimiento de organismos que puedan ser utilizados en la industria con alguna aplicabilidad comercial (Bravo V., 1997). Para Duarte Torres, bioprospección es la búsqueda, clasificación e investigación de compuestos químicos, proteínas, genes con potencial de tener un valor comercial que se encuentren dentro de la diversidad biológica (Duarte, 2011). El uso de la biodiversidad en cualquier aplicación tecnológica o de producción de recursos debe

siempre buscar que haya una compensación que se le retribuya al país o comunidad de donde se realizó la extracción (Brush, 1999), la bioprospección debe contar con tres etapas primordiales que son caracterizar, generar y comercializar un bien o producto a partir de un recurso genético y biológico (Melgarejo, 2003), convirtiéndose en una actividad no destructiva y de sostenibilidad para el medio ambiente (Setzer *et al.*, 2003).

En la actualidad no hay una definición que enmarque el concepto de los diversos autores sobre la bioprospección, pero sus bases han sido usadas a lo largo de la existencia de la humanidad y la utilización del medio ambiente ha sido parte vital en el desarrollo de su esencia y la necesidad de sobrevivir en los diferentes lugares donde se ha establecido las civilizaciones y con el tiempo la industria farmacéutica, médica y biológica ha usado el conocimiento ancestral y el desarrollo de investigaciones de los recursos biológicos y genéticos para el avance en sus campos (Díaz, 2019).

El desarrollo económico a base de la diversidad biológica no siempre ha sido de manera adecuada, el desarrollo farmacéutico en algunos casos ha usado el conocimiento y la medicina ancestral de pueblos indígenas sin compartir los beneficios o realizar una transferencia de conocimiento y tecnología a las comunidades (Eyzaguirre & Woods-Páez, 2002), una práctica común que beneficia a unos pocos, sin tener en cuenta el desarrollo sostenible de la naturaleza y el uso responsable de los recursos biológicos sin retribución directa a la comunidad y al medio ambiente (Duarte, 2011).

Existen dos tipos de bioprospección estudiadas y conocidas como la intencional y la que se da por azar. En la primera existen tres divisiones, la filogenética que busca uso de nuevas especies cercanas a otras ya identificadas con usos ya conocidos, la ecológica que busca recursos naturales que estén en lugares con condiciones medioambientales extremas que puedan tener características fuertes de supervivencia y por último la etnobotánica que usa conocimientos tradicionales de comunidades entablando una relación con estas de manera directa en indirecta (Beltrán, 2013).

La bioprospección por azar es donde se hace la recolección de material biológico y se estudia para saber si tiene algún tipo de molécula o sustancia de interés. Se basa en ensayos de prueba y error y ha sido de la forma en la que más se han descubierto sustancias de interés en la industria médica y farmacéutica a pesar de ser la más complicada de realizar (Rodríguez, 2003).

El autor Mooney determina que la bioprospección puede conllevar a la erosión de los suelos, cambio en el conocimiento sobre el uso y manejo tradicional los cultivos y en la equidad mundial, esto último debido a que se realiza una destrucción ambiental en la búsqueda de un recursos biológico que al caer en el círculo del uso comercial, se deriva a considerar los términos de sobreexplotación, extinción y daño irremediable como ha pasado con comunidades y culturas a lo largo de la historia (Mooney P. , 2002).

Al ser el Estado el garante de la utilización de la biodiversidad, para tener acceso a estos recursos biológicos y genéticos se instauraron una serie de permisos que se deben solicitar según el estudio a realizar, para acceder al recurso biológico sin fines comerciales y sin usar el recurso genético se debe pedir un permiso de acceso a recursos biológicos, denominado permiso Marco de recolección de especímenes de la biodiversidad con fines de investigación no comercio, con este permiso se puede realizar colecta, recolecta, manipulación e investigación (Vallejo Trujillo *et al.*, 2009).

Para acceder al material genético de una especie según la resolución 1352 del 2017 del Ministerio de Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible es necesario contar con un contrato de acceso a recursos genéticos, en el caso de que se extraiga ADN y/o ARN para hacer una solicitud de patente se debe tener como base de aplicabilidad de solicitud de permisos el Protocolo de Nagoya de 2010.

En 1996 la Decisión Andina 391 en su artículo 35 establece que cuando se usen recursos genéticos de comunidades intangibles como la medicina tradicional o las culturas indígenas se debe solicitar el permiso de acceso a recursos genéticos al Ministerio de Ambiente, y Vivienda y Desarrollo Territorial al igual que a la comunidad directamente afectada que se consigue a través del Ministerio de Interior y Justicia con un Certificado de Presencia, documento que avala o descarta la presencia de comunidades en el territorio.



## 2. SOSTENIBILIDAD

En el año 2005, Robert Bermejo expone que el desarrollo sostenible se debe entender desde tres puntos de vista, económico, social y ambiental, entendiendo así que el término económico y social hace referencia al desarrollo y la parte ambiental es la sostenibilidad, en este texto Bermejo presenta que el término sostenibilidad debe entenderse como la capacidad de un sistema para adaptarse en su entorno, teniendo en cuenta sus tres partes conociendo que las unidades económica y social van directamente relacionados con los factores de daño ambiental, es necesario volver sostenible la economía para que pueda complementarse con el entorno natural, entendiendo los principios de la economía de la naturaleza para apropiarse en el desarrollo de la economía humana (Bermejo, 2005).

Para Ezio Manzini el tránsito hacia la sostenibilidad ambiental se debe realizar a partir de la democracia, sin olvidar que estamos en una época de destrucción atómica y daño ambiental causado directamente por los avances bélicos de la humanidad, es de vital importancia conocer los límites de la tierra, y esto se identifica conociendo los límites de la demanda, límites del trabajo, límites demográficos y límites de los recursos, en este caso Manzini define la sostenibilidad como “Condiciones sistemáticas en virtud de las cuales, a escala planetaria y a escala regional, las actividades humanas no pueden llegar a estresar el ecosistema, más allá del límite a partir del cual se activan fenómenos irreversibles de la degradación” (Manzini, 2000).

Con esta definición, se puede entender que no se debe alterar el ciclo natural, ni empobrecer el capital natural con la demanda, la producción, y el consumo de bienes y servicios, para llegar a este propósito el autor afirma que es necesario se reduzca en un 90% en la utilización de recursos y servicios con fines industriales, el término sostenibilidad ambiental se debería entender desde una perspectiva física, económica, ética, estética y cultural, la cual se lograría reduciendo el crecimiento de la industria tanto en producción como en consumo (Manzini,2000).

En la publicación del año 2005, Carrizosa señala que se deben construir herramientas metodológicas para conocer a fondo la complejidad del desarrollo ambiental, destacando la dificultad de definir ambiente no solo como un aspecto físico y biótico, sino que se interiorice al sistema social, la sostenibilidad está directamente asociado al desarrollo sostenible (Carrizosa, 2005).

En sostenibilidad el término se acuña desde la biología, la economía política y la psicología, mientras que el desarrollo sostenible se entiende como los modelos para el uso racional de los recursos naturales. Para el entendimiento de sostenibilidad es necesario observar y conocer su contraparte que sería la insostenibilidad, definiéndose como el agotamiento de recursos naturales ocurriendo de manera imprevista afectando directamente los procesos físicos, biológicos y culturales de un lugar determinado (Carrizosa, 2005).

Leonel Vega define la sostenibilidad ambiental desde el desarrollo, y define la necesidad de lograr políticas ambientales que garanticen la sostenibilidad ambiental

de cada nación; para alcanzar estos objetivos, se debe contar con el apoyo de toda la sociedad construyendo ideas a partir de las necesidades más puntuales en el entorno ambiental (Vega, 2005).

La gestión ambiental debe ser entendida como más relevante que el ambientalismo, el cual busca lograr modelos de desarrollo sostenible. La gestión ambiental se enfoca en acciones concretas para mejorar la sostenibilidad ambiental en la relación entre los seres humanos y la naturaleza. El autor identifica la concentración de poder, riqueza y la alta prevalencia de contaminantes como las principales causas de los problemas ambientales, y destaca la importancia de abordar no solo las políticas ambientales futuras, sino también los componentes sociales, económicos, ambientales e institucionales del presente para satisfacer las necesidades actuales en relación con el medio ambiente. Para lograr un desarrollo sostenible, es necesario contar con la colaboración no solo del sector ambiental, sino también de los sectores políticos, sociales e industriales, con el objetivo de transformar el desarrollo ambiental en sostenibilidad ambiental y resolver los problemas ambientales desde diversas perspectivas culturales. (Vega, 2005).

En el 2022 un estudio publicado sobre gestión ambiental explica una nueva perspectiva sobre el estudio de la huella ecológica como una herramienta para sensibilizar y encontrar nuevas formas de consumo en la población, que incluye el uso de energía, consumo de alimentos, uso de combustibles, producción de basura y uso responsable de la tierra, además concluyen que se debe rechazar las políticas que estimulan la práctica desmesurada de recursos naturales (Guarín, 2022), dentro

de esta gestión de la sostenibilidad se explica una forma más amable de explotación de los bienes ambientales que busca un equilibrio ambiental desde la investigación en la reutilización y manejo prudente del ecosistema.

## **FINALIDAD DE LA DECLARACIÓN DE RÍO 1992**

En esta declaración se buscó adoptar una estrategia de modalidad mundial, para resolver algunas contradicciones entre el desarrollo económico y la conservación del medio ambiente, se pone en evidencia que en el último siglo se ha desaparecido o contaminado de manera acelerada y en muchas situaciones irreversibles los recursos naturales, parte fundamental en el desarrollo y supervivencia como raza humana. En esta declaración existe la necesidad de adoptar o manejar un nuevo tipo de modelo económico que evite la escasez (Romero, 2012).

Ante las Naciones Unidas, el término de desarrollo sostenible debe manejarse como un concepto ideologizado, por lo que pueden existir diversas opiniones o postulaciones teniendo en cuenta una fase ecológica del capital en la cual se crea una plataforma conceptual, política y legal para generar, producir y comercializar productos que tengan un componente ambiental, en esta medida se debe tener en cuenta (Romero, 2012):

- Los costos ambientales: Nuevas formas de producir, teniendo en cuenta el impacto ambiental, planes de manejo y licencias ambientales.
- Juridificación de las relaciones ambientales: Políticas públicas y aparato ambiental, legislación ambiental

- Introducción del valor del cambio: Se pretende hacer un cambio entre el concepto de los recursos naturales convirtiéndolo no solo en bienes de uso, sino introducirlos en un proceso mercantil.
- Sustitución de instrumentos, es necesario obligar o reglamentar que los productos actualmente contaminantes sean reemplazados por energías limpias.
- Legitimación de las nuevas relaciones de producción: hipotético equilibrio entre los bienes y la sostenibilidad de los recursos

En esta declaración se trataron los temas para resolver la pobreza, el incremento de la población, crear buenas prácticas en la implementación científica y tecnológica, mejorar la calidad de la vida, producir más con menos, reducir la explosión demográfica, redistribuir el exceso de consumo, pasar del crecimiento de consumo hacia una economía de sostenibilidad de sistemas naturales básicos (Romero, 2012).

### **3. DESARROLLO SOSTENIBLE EN COLOMBIA**

A continuación, se presenta la normatividad que rige el Desarrollo Sostenible en Colombia:

Ley 23 de 1973 “Por la cual se conceden facultades extraordinarias al Presidente de la República para expedir el Código de Recursos Naturales y protección al medio ambiente y se dictan otras disposiciones”, es la primera vez que se introduce elementos de sostenibilidad ambiental, estableciendo que el código de recursos

naturales tiene su fundamento en la relación que entre principio del medio ambiente como patrimonio de la humanidad.

- Art. 2. El medio ambiente es un patrimonio común; por lo tanto, su mejoramiento y conservación son actividades de utilidad pública, en las que deberán participar el Estado y los particulares. Para efectos de la presente Ley, se entenderá que el medio ambiente está constituido por la atmósfera y los recursos naturales renovables.
- Art. 3. Se consideran bienes contaminantes el aire, el agua y el suelo.

Constitución Política de Colombia, artículo 80 “El Estado planificará el manejo y aprovechamiento de los recursos naturales, para garantizar su desarrollo sostenible, su conservación, restauración o sustitución. Además, deberá prevenir y controlar los factores de deterioro ambiental, imponer las sanciones legales y exigir la reparación de los daños causados. Así mismo, cooperará con otras naciones en la protección de los ecosistemas situados en las zonas fronterizas.”

Ley 99 de 1993 “Por la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el Sector Público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental, SINA y se dictan otras disposiciones.”, en esta se dispone los principios generales ambientales, en el artículo 1 se expone que el proceso de desarrollo económico y social del país se orientará según los principios universales de desarrollo sostenible de la Declaración de Rio de 1992; en el artículo 3 se define desarrollo sostenible como un conductor al crecimiento, que permita una mejor calidad de vida, con el fin

de mejorar de aprovechar los recursos naturales renovables sin la necesidad de agotarlos o dañarlos, esto con el fin de realizar conservación salvaguardando el derecho de las generaciones futuras un ecosistema limpio que pueda seguir siendo utilizando en beneficio propio.

Ley 164 de 1994 se ratifica la convención marco de las Naciones Unidas sobre el calentamiento global el cual tiene como objetivo la estabilización de las concentraciones de gases de efecto invernadero en la atmósfera a un nivel que prevenga interferencias peligrosas con el sistema climático.

Ley 165 de 1994 Por medio de la cual se aprueba el "Convenio sobre la Diversidad Biológica", hecho en Río de Janeiro el 5 de junio de 1992. Cuyo objetivo es “la conservación de la diversidad biológica, la utilización sostenible de sus componentes y la participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de la utilización de los recursos genéticos, mediante, entre otras cosas, un acceso adecuado a esos recursos y una transferencia apropiada de las tecnologías pertinentes, teniendo en cuenta todos los derechos sobre esos recursos y a esas tecnologías, así como mediante una financiación apropiada”.

Ley 740 de 2002 se ratifica protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica cuyo objetivo “es contribuir a garantizar un nivel adecuado de protección en la esfera de la transferencia, manipulación y utilización seguras de los organismos vivos modificados resultantes de la biotecnología moderna que puedan tener efectos

adversos para la conservación y la utilización sostenible de la diversidad biológica, teniendo también en cuenta los riesgos para la salud humana, y centrándose concretamente en los movimientos transfronterizos”

Ley 1196 de 2008, se aprueba el convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes, además se dictan medidas para reducir o eliminar las liberaciones derivadas de la producción y utilización intencional y no intencional.

Jurisprudencia ambiental sentencia #T536/92 Derecho medio ambiente sano, en esta se establece que el ambiente sano y equilibrado es un derecho constitucional, ya que al realizar actos contra este o realizar actos que dañen el medio ambiente, se estaría atentando directamente contra la perpetuación de la especie humana, contra el derecho de la vida, y contra el derecho a la salud ya que dependiendo las condiciones ambientales en las que se encuentre una comunidad afecta de manera directa la salubridad de esta población, igualmente existen unos límites tolerables de contaminación que al momento de ser traspasados atentan contra los derechos ya nombrados, y no son justificables por lo que se exige imponer algunas multas y algunos correctivos.

Sentencia ambiental #C519/94 medio ambiente sano y protección a la biodiversidad, si bien se conoce una protección jurídica del derecho a un ambiente sano y se sabe de su importancia dentro del desarrollo social, también se incluyó dentro de la constitución otros temas de interés ecológico como la biodiversidad, la conservación de áreas naturales de especial importancia, del desarrollo sostenible,



de la calidad de vida y de la educación y la ética ambiental, los cuales son necesarios para conformar un estándar mínimo de control y conservación, en esta sentencia se reconoce que al Colombia ser uno de los países con mayor diversidad en el mundo es necesario mantener el interés en los acuerdos internacionales que tengan como fin mantener, conservar y utilizar la biodiversidad en diferentes procesos.

Si bien la normatividad citada reconocen el derecho constitucional a un medio ambiente sano y equilibrado, destacando su importancia para la perpetuación de la especie humana, el derecho a la vida y a la salud. En Colombia, existen diversas leyes que han sido consideradas como extractivistas, ya que han sido criticadas por promover la explotación intensiva de recursos naturales sin tener en cuenta los impactos ambientales y sociales que pueden generar. Algunas de estas leyes son:

Ley 685 de 2001: Esta ley, también conocida como el Código de Minas, ha sido objeto de críticas por su enfoque predominantemente extractivista. Establece normas para la exploración y explotación de recursos mineros y fomenta la inversión extranjera en el sector minero. Ha sido señalada por su falta de garantías para la protección del medio ambiente y los derechos de las comunidades locales.

Ley 1382 de 2010: Esta ley permitió la realización de proyectos de exploración y explotación de hidrocarburos en áreas naturales protegidas, lo que generó fuertes críticas por parte de organizaciones ambientales y comunidades afectadas. Fue

considerada como una ley extractivista que priorizaba los intereses económicos sobre la conservación del medio ambiente.

Ley 1753 de 2015: Esta ley, conocida como el Plan Nacional de Desarrollo, ha sido señalada por promover la explotación intensiva de recursos naturales, en particular la minería y la producción de hidrocarburos. Se ha argumentado que prioriza el crecimiento económico a costa de los impactos negativos en el medio ambiente y los derechos de las comunidades.

El modelo extractivista en Colombia se refiere a un enfoque de desarrollo económico basado en la explotación intensiva de recursos naturales, como la minería, la producción de petróleo y gas, y la agroindustria a gran escala. Este modelo se caracteriza por priorizar la obtención de beneficios económicos a corto plazo, sin tomar en cuenta de manera adecuada los impactos ambientales, sociales y culturales que puede generar.

Algunas características del modelo extractivista en Colombia son:

- Dependencia de los recursos naturales: El modelo extractivista se basa en la explotación y exportación de recursos naturales como motor principal de la economía. Sectores como la minería, el petróleo y la agricultura intensiva son considerados como fuentes de ingresos y generación de empleo (Velez,2014).
- Concentración del poder económico: La implementación del modelo extractivista ha llevado a la concentración del poder económico en manos de

grandes empresas nacionales y extranjeras, lo que puede generar desequilibrios y desigualdades en la distribución de la riqueza (Velez,2014).

- Impactos ambientales: La explotación intensiva de recursos naturales puede tener graves impactos en el medio ambiente, incluyendo la deforestación, la contaminación del agua y del aire, la pérdida de biodiversidad y la degradación de los ecosistemas. Estos impactos pueden tener consecuencias negativas a largo plazo para la sostenibilidad y la resiliencia de los sistemas naturales (Velez,2014).
- Conflictos sociales: El modelo extractivista ha generado conflictos entre las empresas extractivas, el Estado y las comunidades locales. Estos conflictos pueden estar relacionados con la afectación de los territorios de las comunidades, la violación de derechos humanos, la pérdida de medios de vida tradicionales y la falta de consulta y participación de las comunidades en la toma de decisiones (Velez,2014).
- Vulnerabilidad económica: La dependencia excesiva de los recursos naturales puede llevar a una vulnerabilidad económica, ya que los precios internacionales de estos recursos son volátiles y están sujetos a fluctuaciones. Esto puede afectar negativamente la estabilidad económica del país (Velez,2014).

Es importante señalar que el modelo extractivista en Colombia ha sido objeto de críticas y ha generado movimientos sociales y organizaciones que buscan promover alternativas de desarrollo más sostenibles, basadas en la conservación del medio

ambiente, el respeto a los derechos de las comunidades y la diversificación de la economía.

Para el Banco Interamericano de Desarrollo, los países con una gran biodiversidad pueden enfrentar la paradoja de la abundancia en el contexto de la bioprospección. Esto significa que a pesar de tener una abundancia de recursos biológicos, su crecimiento económico se ve obstaculizado o es lento. Esta situación se debe a la falta de investigación propia, altos niveles de corrupción en los procesos y negociaciones, y la explotación inadecuada de las comunidades por parte de empresas de países desarrollados (Acosta, 2012).

La biodiversidad se considera fundamental para el desarrollo según las políticas nacionales e internacionales. En este sentido, países como Colombia deben posicionarse como líderes en la investigación, desarrollo y explotación de los recursos ambientales, con el objetivo de comercializar e industrializar los avances biotecnológicos. Esto implica aprovechar de manera sostenible los recursos genéticos presentes en el país para generar beneficios económicos y promover el desarrollo tecnológico (Acosta, 2015).

Sin embargo, para superar la paradoja de la abundancia en la bioprospección, es necesario abordar los desafíos mencionados, como la falta de investigación propia, la corrupción y el engaño a las comunidades. Además, es importante establecer políticas y regulaciones claras que promuevan la participación equitativa de las

comunidades locales y garanticen la sostenibilidad ambiental en el proceso de desarrollo y comercialización de los productos biotecnológicos (Acosta, 2012).

En resumen, la paradoja de la abundancia en la bioprospección se refiere a la situación en la que países con una vasta biodiversidad enfrentan dificultades para aprovechar y beneficiarse adecuadamente de sus recursos biológicos. Superar esta paradoja implica impulsar la investigación y desarrollo propios, combatir la corrupción, proteger los derechos de las comunidades y establecer políticas que fomenten la sostenibilidad y la equidad en la explotación de la biodiversidad.

#### **4. RESISTENCIA Y POTENCIAL DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS PLANTAS**

Desde el inicio de la humanidad y a lo largo de la historia, se han utilizado diversas metodologías y tecnologías en pro del mejoramiento de la salud, pero también estos cambios y el uso indiscriminado de antibióticos ha generado resistencia a estos por los microorganismos, la cual se ha convertido en una de las problemáticas más difíciles de tratar, por lo que en la actualidad no solo se busca el descubrimiento o redescubrimiento de sustancias sintéticas que puedan combatir este suceso, sino que se investiga en el aprovechamiento y uso de plantas medicinales que se utilizan en la medicina tradicional (Cabrera, 2005).

La era antibiótica del siglo XX da sus primeros pasos a la luz en 1935 cuando Domagk publica el descubrimiento de *Prontosil rubrum* proveniente de una

sulfonamida el cual presentaba una acción contra cocos tanto Gram positivos como Gram negativos (Domagk, 1935), lo que dio lugar a investigaciones posteriores sobre más compuestos sulfanamídicos y el descubrimiento de que la actividad *in vivo* de este tipo de compuestos era mejor que los ensayos *in vitro* realizados, dado al desdoblamiento de las moléculas las cuales no eran bactericidas sino bacteriostáticas (Domagk, 1935).

Es en 1938, cuando un grupo de investigadores llamados "el grupo de Oxford" inicia un estudio en sustancias antibacterianas naturales (Abraham, Cols, 1945).

En los años 40, gracias a las investigaciones de Fleming, aparece formalmente la penicilina en el mercado, la cual fue ampliamente usada durante la Segunda Guerra Mundi y consecuentemente fue introducida en terapias hospitalarias (Fleming 1920) junto con antibióticos descubiertos después de la penicilina tales como el cloranfenicol, las primeras tetraciclinas, la estreptomicina, la colistina, la anfotericina B, la novobiocina, la vancomicina, entre otros antibióticos; a partir de este momento empieza una carrera en la fabricación y descubrimiento de nuevas terapias que pudiesen combatir microorganismos patógenos (Stockel, 1993).

Una década posterior a la conformación del grupo de Oxford, en 1949, publicaron un informe sobre algunas plantas que ellos habían estudiado y descubierto su potencial como antimicrobianos (Florey, 1949). En los años 60's se iniciaron los ensayos biológicos con plantas medicinales a gran escala. Según lo publicado por Farnsworth N.R. en su estudio "*Biological and Phytochemical screening of plants*"

determinó que la mayoría de las plantas ensayadas presentaban actividad antibacteriana frente a patógenos Gram positivos y que dicha actividad era menor frente a microorganismos Gram negativos (Farnsworth, 1966).

En 1969 Pitts O.M. y Cols., describen las propiedades antimicrobianas presentes de *Solanum carolinense* en un extracto acuoso frente a bacterias Gram negativas (Pitts, 1969).

En 1974 Lee K.H. y Cols., analizan la actividad antibacteriana de las sesquiterpenlactonas halladas en diversas plantas y su efecto citotóxico (Lee, 1974). Dos años más tarde, Rodríguez C. y cols., determinan la excelente actividad que las sesquiterpenlactonas presentan frente a patógenos Gram positivos (Rodríguez, 1976).

Mitscher L.A y Cols. en 1972, describen la acción antimicrobiana presente en *Thalictrum rugosum* y *Thalictrum polygamum* frente a bacterias Gram positivas debido a alcaloides presentes en las hojas de estas plantas (Mitscher, 1972).

Ocares 2012, investiga y concluye que la importancia de estudiar los extractos vegetales, o metabolitos secundarios radica principalmente en la facilidad y disposición de trabajar con un recurso que se encuentra presente en toda la naturaleza, o en los ecosistemas donde el hombre está presente, también manifiesta que existen pocos efectos adversos a la salud humana, teniendo como base una comparación con los antibióticos sintéticos encontrados en el mercado

actualmente, se debe tener en cuenta el efecto de bioacumulación en el cuerpo humano de los fármacos los cuales pueden presentar un efecto adverso para la salud, mientras que utilizando extractos naturales el grado de toxicidad es menor y a largo tiempo la residualidad también es más pequeña (Ocares, 2012).

En 2021 un estudio de Fernández A y cols, sintetizaron cuatro péptidos a partir de una proteína con potencial antimicrobiano que se expresa en las flores de *Silybum marianum* y fue probado frente al patógeno *Fusarium graminearum* agente que causa el tizón de la espiga que afecta significativamente la productividad del cultivo de trigo, estos péptidos fueron sintetizados de la proteína DefSm2-D una defensina presente en estas plantas, dos de la región alfa SmAP $\alpha$ 1-21, SmAP $\alpha$ 10-21, y dos de la región gama SmAP $\gamma$ 27-44 y SmAP $\gamma$ 29-35, los resultados indicaron que los péptidos de la región alfa inducían un cambio en la pared celular de las conidias de *Fusarium* convirtiéndose en un resultado prometedor en la investigación de nuevos péptidos que conduzcan a la producción de nuevas sustancias que tengan uso antimicrobiano (Fernández, 2021).

##### **5. *Eichhornia crassipes* (Mart) solms. y *Lemna* spp.**

Como se evidencia, el uso de diversos tipos de plantas ha sido un gran avance en la ciencia moderna, lo que ha permitido el desarrollo de gran variedad de fármacos. Algunas de las plantas en las que se han realizado diversas investigaciones son las pertenecientes a la especie *Eichhornia crassipes* la cual es una planta de crecimiento indeseado en el medio acuático por diversas implicaciones ambientales,



es conocida en Colombia como “Buchón de agua”, y en algunos países de Latinoamérica como “Jacinto de agua” o “Lirio de agua”, la mayoría de estudios realizados han sido referentes a la capacidad que tiene esta planta de captar metales pesados, su implementación en medios acuáticos contaminados (Benitez, 2011), y la implicación ambiental que tiene el crecimiento abundante de *Eichhornia crassipes* en ambientes naturales y su impacto sobre la biodiversidad de la zona (Villamagna, 2010).

Vadlapudi V. en el año 2010, realizó un ensayo antimicrobiano con el extracto metanólico de diversas plantas de la India, entre ellas *Eichhornia crassipes*. Los extractos fueron ensayados mediante la técnica de difusión en agar y se evaluó su acción antimicrobiana frente a *Alternaria alternate*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Xanthomonas campestris*. Los halos de inhibición de *Eichhornia crassipes* fueron para *Alternaria alternate* de 11 mm, para *Aspergillus flavus* de 10 mm, *Fusarium oxysporum* la inhibición fue de 9 mm, frente a *Rhizoctonia solani* se dio una inhibición de 14 mm, y para *Xanthomonas campestris* fue de 8 mm siendo el menos sensible (Vadlapudi, 2010).

Shanab S. y cols en el año 2010, realizaron una extracción metanólica de *Eichhornia crassipes* evaluando los compuestos mediante cromatografía de capa fina, el extracto crudo se fraccionó utilizando diferentes cantidades de hexano/acetato de etilo, se realizaron cinco concentraciones desde 20 mg/ml hasta 250 mg/ml, estas concentraciones se probaron contra *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* y

*Candida albicans*, el ensayo se realizó mediante la técnica de difusión en disco y se evaluó el halo de inhibición que ejercía cada extracto sobre los microorganismos seleccionados. Frente a *Bacillus subtilis* todos los extractos ejercieron inhibición entre 12 mm y 14 mm, con *Enterococcus faecalis* todos los extractos inhibieron con halos de 11 mm a 14 mm, contra *Staphylococcus aureus* se encontraron halos entre 12 mm y 15 mm, sobre los hongos *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* no se encontró ninguna inhibición por parte de los extractos mientras que para *Candida albicans* hubo halos entre 12 mm y 15 mm con todos los extractos (Shanab, 2010).

Thamaraiselvi y cols. en el año 2012, realizaron extracciones orgánicas con etanol, con acetato de etilo, con cloroformo y extracciones acuosas de las hojas de *Eichhornia crassipes*. Realizaron un análisis fitoquímico del extracto etanólico y por último evaluaron la actividad antimicrobiana de cada extracto frente a *Micrococcus luteus*, *Rhodospirillum rubrum*, *Monascus ruber* y *Aspergillus fumigatus* mediante la técnica de difusión en agar. El análisis fitoquímico mostró que en las hojas se encontraban compuestos como: alcaloides, flavonoides, esteroides, terpenoides, antroquinonas, fenoles, los ensayos antimicrobianos mostraron que frente a *Micrococcus luteus* el extracto etanólico dio 11 mm de inhibición, con acetato de etilo 10 mm, con cloroformo 8 mm, y con el extracto acuoso 9 mm; frente a *Rhodospirillum rubrum* se encontraron halos de inhibición de 10 mm, 12 mm, 14 mm, 10 mm con el extracto etanólico, de acetato de etilo, cloroformo y acuoso respectivamente; frente a *Aspergillus fumigatus* hubo inhibición por parte de todos los extractos etanólicos y de acetato de etilo con halos de hasta 15 mm y por último

contra *Monascus ruber* los halos se encontraban entre 8 mm y 11 mm con el extracto etanólico (Thamaraiselvi, 2012).

Otra de las plantas que es considerada de crecimiento indeseado o arvense es *Lemna gibba* conocida tradicionalmente como lenteja de agua, se encuentra comúnmente en los cuerpos de agua, formando una capa de alfombra verde sobre los lagos y humedales, la cual al crecer exponencialmente es causante que muchas especies fotosintetizadoras como algas y fitoplancton no se desarrollen de manera adecuada (Canales 2010). En el año 1998 Zayed y cols. demuestran la capacidad de *Lemna gibba* como potente bioacumulador de cadmio, cobre, níquel, cromo, selenio y plomo, los cuales son desechos de mayoría industrial que han sido responsables de generar pérdida de la fauna y flora en espacios acuáticos y terrestres (Zayed 1998).

Al ser una especie considerada como arvense por su crecimiento desmesurado según (Arroyave, 2004), es el modelo ideal para investigar la depuración y purificación de contaminantes presentes en los cuerpos acuáticos contando con la capacidad alta de tolerar y crecer en ambientes ricos de metales pesados (Arroyave, 2004).

Effiong B. y Cols en el año 2009 publicaron un estudio donde obtienen extractos etanólicos y acuosos de *Lemna paucicostata*, con el objetivo de medir la capacidad antifúngica de la Lenteja de agua, los hongos utilizados en esta investigación fueron *Fusarium Oxysporium*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus*

*flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Rhizopus oryzae*. Los resultados arrojaron que los extractos etanólicos tienen una mayor inhibición fungicida cerca del 100% frente a todos los microorganismos con una concentración del 10% mientras que los resultados encontrados con el extracto acuoso a una concentración igual no demostraba la misma capacidad inhibitoria (Effiong 2009).

En el año 2010 Gülçin I. y cols publicaron una investigación sobre la actividad Antioxidante, Antifúngico, Antibacterial y Anti radical *in vitro* de *Lemna minor* la metodología utilizada fue la extracción acuosa y luego liofilizada y extracción etanólica; para el estudio se utilizaron un total de 21 cepas bacterianas y 4 cepas de levaduras, entre los resultados se encontró una inhibición mayor del crecimiento microbiano por parte del extracto etanólico de las especies *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria sicca*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, y *Streptococcus pneumoniae*, y un efecto antifúngico contra *Candida parapsilosis* y *Candida glabrata* (Gülçin, 2010).

En el año 2010 Canales A. realizó un estudio sobre la biomasa y manejo de *Lemna gibba*, presente en el lago Titicaca, el cual se ha visto involucrado en procesos de eutrofización, se identifica en esta publicación que la medida más utilizada para el control de la biomasa es la erradicación completa de este organismo, pero al ser una planta de rápido crecimiento y capaz de crecer sobre lugares ricos de metales pesados, nitrógeno y potasio, la sobrepoblación se regenera fácilmente, entre las alternativas propuestas por este autor se enmarca la utilización de la biomasa como

insumo en cuatro áreas, producción, transformación, comercialización y turismo sostenible (Canales, 2010).

Las especies *Lenma minor* y *Eichhornia crassipes (solms)* fueron usadas en un estudio publicado el año 2012 por Bres y cols, que buscaba determinar la capacidad de biorremediación aguas contaminadas con níquel (Ni), la metodología utilizada en esta publicación incluye aplicación de tratamiento *in vitro* y análisis de tejidos en las dos plantas por medio de espectrofotometría de absorción atómica. Los resultados demostraron que ambas especies eliminan efectivamente altas concentraciones de níquel, pero *L. minor* demostró una mayor efectividad en la remoción del metal en menores cantidades y se demostró que el tejido vegetal era capaz de contener trazas de este contaminante (Bres, 2012).

Zhang Y, y Cols en el año 2010 caracterizan un modelo para el estudio de la infección bacteriana a gran escala. Este modelo se constituye inicialmente con el cultivo de *Lemna minor*, y la interacción con dos microorganismos patógenos *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, al momento de medir la patogenicidad de estas cepas frente al desarrollo de la planta, se encontró que producía un perjuicio al inhibir en específico la obtención de clorofila y la multiplicación de la fronda, estos resultados demuestran que *L. minor* es un modelo conveniente para medir la interacción del huésped-patógeno, estudio de algunos factores de virulencia y potencialmente en el descubrimiento de productos de capacidad antimicrobiana (Zhang, 2010).

En el año 2010, Duman F, y cols estudiaron el efecto potencial de la utilización exógena de salicilatos, en el cambio estructural de la permeabilidad membranal producido en algunas plantas, al conseguir este efecto se logra el ingreso de iones metálicos existentes en su hábitat, entre los metales pesados estudiados se encuentra la acumulación por plomo (Pb) y la acumulación por cobre (Cu), y se utilizó la especie *L. gibba* como modelo experimental y se demostró que al utilizar salicilato sódico se puede proteger contra el daño en el ADN de la especie, y además este salicilato reduce considerablemente la acumulación de Pb, mientras que a una concentración de 0.5mM aumenta la acumulación de Cu, convirtiéndose en una aplicación muy útil para la Fitoextracción de Cu (Duman, 2010).

Almahy H, en el año 2015 publicó un estudio en el cual evaluaba la actividad del extracto metanólico de las hojas de la especie *Lemna minor* frente a ocho diferentes especies bacterianas, la extracción se realizó utilizando el método de soxhlet y las bacterias contra las que se evaluó el extracto fueron *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Shigella flexneri*, *Bacillus megaterium* y *Salmonella typhi*, los resultados expresados en concentración mínima inhibitoria (CMI) que se estableció para cada microorganismo fueron los siguientes *Bacillus subtilis* 40 ug/ml, *Escherichia coli* 115 ug/ml, *Pseudomonas aeruginosa* 90 ug/ml, *Staphylococcus aureus* 170 ug/ml, *Micrococcus luteus* 60 ug/ml *Shigella flexneri* 12 ug/ml *Bacillus megaterium* >200 ug/ml, *Salmonella typhi* 125 ug/ml de extracto (Almahy, 2015).

López E y cols en el año 2020 probaron extractos acuosos de *E. crassipes* extraídos por la técnica de Soxhlet y presento una actividad con un halo de inhibición contra *S. aureus* de 18.40 mm y frente a *Salmonella sp.* un halo de 11.93 mm, adicionalmente se demostró era rica en fenoles, saponinas, flavonoides, lo que le daría la acción bacteriostática frente a estos patógenos, lo que convierte este tipo de extracto en esta especie vegetal en un potencial biotecnológico para que sea usado como materia prima en producciones industriales.

En 2020 un estudio probó la actividad de extracto etanólico de la planta *L. minor* evaluado por el método de difusión en disco y con efectividad inhibitoria contra las levaduras *Candida parapsilosis* y *Candida glabrata* y contra las bacterias *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. warneri*, *C. freundii*, *B. subtilis* y *S. pneumoniae* (Gonzalez, 2020). En 2022 Caovilla y cols, probó, extractos acuosos de *Lemna valdiviana* contra los hongos *Penicillium sp* y *T. viride* y el resultado de la CMI fue 500ug/ml, también se probó contra más 10 bacterias de las cuales solo tuvo efecto contra *E. faecalis* (Caovilla, 2022).

## CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

### 1. BIOPROSPECCIÓN

Varios han sido los autores que han definido la bioprospección desde su ejercicio y su aplicación, (Tabla 1). Según Carrizosa S. la bioprospección se define como *“Búsqueda de materia viva con propiedades medicinales, industriales, farmacológicas y biotecnológicas, con marcadas implicaciones sociales, culturales, económicas, jurídicas y políticas”* (Carrizosa, 2012).

La bioprospección es una disciplina multidisciplinaria que abarca diversos sectores, como el económico, social, ético y político. Cada uno de estos sectores contribuye a la construcción de beneficios en esta área (Gómez, 2014).

En el ámbito económico, se busca desarrollar y comercializar productos o servicios en el mercado, identificando las necesidades y el sector productivo donde se espera un crecimiento industrial y económico significativo (Gómez, 2014).

En el ámbito social, se enfoca en aprovechar los recursos generados para beneficiar a la población, no solo desde una perspectiva de rentabilidad económica, sino también fortaleciendo los procesos de aprendizaje, reducción de la inequidad y mejora en el nivel y expectativas de vida de una comunidad. Se busca que los primeros beneficiados sean las comunidades rurales y se fomenta la inclusión social (Gómez, 2014).



Desde la perspectiva ética, se busca generar reconocimiento por parte de la sociedad hacia el entorno biológico y natural, no solo como fuente de recursos o bienes, sino también como elementos vitales para la calidad de vida. Se promueve un enfoque ético y ecológico, reconociendo la importancia del medio ambiente y la naturaleza (Gómez, 2014).

En el ámbito político, se busca intensificar la participación social y democrática de las diferentes partes involucradas en la bioprospección. Esto implica a aquellos que protegen y dependen de la biodiversidad como medio fundamental para su supervivencia, así como a los sectores encargados de obtener y comercializar productos que utilizan la biodiversidad como fuente (Gómez, 2014).

La bioprospección permite no solo conocer los aspectos biológicos, ecológicos o genéticos de una especie, sino que evidencia el desarrollo de una caracterización única de esa especie o población en estudio (Beattie, 2011). La investigación en bioprospección se puede dar, a grandes rasgos, en la utilización de la flora, los microorganismos o la fauna presente en una nación, de tal manera que se desarrolle de una manera en la cual la ciencia pase de ser básica a aplicada (Paz, 2006).

Entendida de esta manera, se puede decir que entre más recursos biológicos posea una nación, más posibilidades existen para desarrollar investigación en bioprospección. Por esta razón, Colombia al estar ubicada dentro de los 19 países que más megabiodiversidad tienen (Romero, 2008), su posibilidad de desarrollo en esta área podría ser considerada como excepcional.

Colombia al albergar el 10% de toda la biodiversidad del planeta es considerada como el segundo país más mega biodiverso del mundo (Romero, 2008), al tener una importante flora y fauna, lo cual es reconocido ante la CAN, la cual ha hecho estudios en la zona Andina demuestra su gran capacidad a nivel biotecnológico y más concretamente se refiere a Colombia y todos sus potenciales en el área de la biotecnología (Romero, 2008).

Una definición que enmarca de manera interdisciplinar la bioprospección es la que definió Díaz en 2019 que la enuncia como *“una herramienta científica que se basa en la investigación de los recursos biológicos y genéticos con potencial de explotación controlada para generar nuevos productos que aporten en el área de la medicina, farmacéutica, agrícola, entre otros, pudiendo llegar a ser comercializados, donde parte de la ganancia compense al país emisor de los recursos, es decir, que haya una repartición justa y equitativa de los beneficios producto del acceso a dichos recursos”* (Díaz,2019).

Autor	Definición
(Carrizosa, 2000)	"Búsqueda de materia viva con propiedades medicinales, industriales, farmacológicas y biotecnológicas, con marcadas implicaciones sociales, culturales, económicas, jurídicas y políticas".
Melgarejo, Sánchez, Chaparro, Burbano, Reyes, Newmark, y Santos-Acevedo (2002, p. 24).	"Temática y trabajo colectivo orientados a la búsqueda, conocimiento y selección de organismos o productos derivados, con uso actual o potencial en salud, alimentación, industria y medio ambiente, entre otros y su aprovechamiento sostenible en procesos productivos a escala industrial o artesanal, con aplicación nacional o internacional de los productos o servicios generados".
(Quezada, Roca, Szauer, Gómez, & López, 2005, p. 70)	"La bioprospección es el punto de encuentro entre la biotecnología y la biodiversidad. La biotecnología debe convertirse en la herramienta preferida para valorizar la biodiversidad, permitiendo una más efectiva identificación y utilización sostenible de genes y bioproductos".
(Grupo Semillas, 2008, p. 28).	"Actividades relacionadas con la investigación, recolección, inventario, identificación taxonómica de recursos biológicos y genéticos, recolección de conocimientos y prácticas etnobotánicas, con potencialidad para la obtención de productos industriales con fines comerciales".
(Huete-Pérez, 2008, p. 90).	"Búsqueda sistemática de genes, componentes naturales y organismos completos en la naturaleza, buscando darles un potencial para el desarrollo de productos. Esta actividad relaciona exitosamente la base del conocimiento tradicional y medicina botánica con las herramientas biotecnológicas en la generación de nuevos productos".
Documento de Política para el desarrollo comercial de la biotecnología a partir del uso sostenible de la biodiversidad DNP (2011, p. 35).	<i>"Exploración sistemática y sostenible de la biodiversidad para identificar y obtener nuevas fuentes de compuestos químicos, genes, proteínas, microorganismos y otros productos que tienen potencial de ser aprovechados comercialmente"</i> (Definición del Conpes 3697 de 2011, citando a Rocha, 2009).
Política Nacional para la Gestión Integral de la Biodiversidad y sus Servicios Ecosistémicos (2013, p. 113).	"Exploración de la diversidad biológica para identificar recursos genéticos y bioquímicos de valor social o comercial" (citando a Millenium Ecosystem Assessment 2005).
(Melgarejo, 2012)	"Investigación de la biodiversidad y sus productos que tiene como último fin la comercialización y en donde se dan los pasos de: estudio sistemático de recursos biológico-genéticos, transformación del recurso en producto que fortalecen cadenas de valor, comercialización en pequeña o gran escala, protección a través de la propiedad intelectual y distribución de beneficios y en donde pueden entrar en juego consideraciones bioéticas, cálculos actuariales económicos, conocimiento tradicional y el uso de biodatos (Citado por Melgarejo, et al, 2013, p. 23)".
(Toro & Melgarejo, 2013, p. 13).	"Desarrollo de la actividad corporativa farmacéutica y agroindustrial, basado en acceso, caracterización, transformación y comercialización de recursos biológico-genéticos, plantas medicinales, el conocimiento tradicional asociado y los microorganismos de las regiones ricas en Biodiversidad".

**Figura 1** Definición de bioprospección según diversos autores. Tomado de: (Español, 2017, pág. 26)

## 2. ESPECIES VEGETALES

### 2.1. *Eichhornia crassipes* (mart) Solms

Conocido en Colombia y Latinoamérica como “Buchón de agua”, es una planta acuática de tallo flotante, raíces negras y largas, sus hojas tienen forma circular o de riñón y son de color verde, la flor puede ser de color blanco o azul violeta, su tamaño puede variar y puede alcanzar los 60 cm de largo (Gómez, 2012).

Según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), *Eichhornia crassipes* (solms) es considerada una de las 100 especies exóticas invasoras más dañinas del mundo (Alowe, 2004), esto debido a su alta reproducción y crecimiento, según datos de la Corporación Autónoma Regional (CAR) su crecimiento puede ser de hasta 62 cm por mes en un tapete flotante, y sus plantas se duplican cada 2 semanas por retoños o estolones, además que por su alta competitividad con otras plantas por los nutrientes, fuente solar y oxígeno puede causar la extinción o disminución de la densidad poblacional de especies individuales o en conjunto presentes en el ecosistema acuático incluyendo plantas y peces (Corporación Autónoma Regional, 2020).

### 2.1.1. Taxonomía

**Tabla 1. Taxonomía *Eichhornia crassipes***

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Commelinales
Familia	Pontederiaceae
Género	<i>Eichhornia</i>
Especie	<i>Eichhornia crassipes</i>

### 2.1.2. Condiciones Edafoclimáticas

El buchón de agua crece en todos los continentes, pero en sitios como Islandia y Dinamarca su crecimiento no prospera por sus condiciones climáticas, *E. crassipes* crece en estanques poco profundos, humedales, aguas lentas como lagos, embalses, pero también puede encontrarse en grandes ríos. Esta especie puede tolerar la alta fluctuación del nivel del agua y las variaciones en su velocidad de flujo, además de extremos de disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura además de presencia de sustancias tóxicas (GISD, 2006).

### 2.1.3. Problema de Biomasa de *Eichhornia crassipes* y alternativas de solución.

El crecimiento del buchón de agua es indiscriminado en gran parte por las aguas con alto contenido en nutrientes, en particular en nitrógeno, fósforo y potasio, esta

planta muestra sensibilidad a las heladas, no tolera el agua salobre. Es considerada como una de las especies invasoras más dañinas del mundo, básicamente por su impacto negativo sobre la biodiversidad, al doblar su población en tan solo doce días el buchón de agua imposibilita que la luz del sol y el oxígeno alcancen las plantas sumergidas, reduciendo drásticamente la diversidad biológica en los ecosistemas acuáticos (GISD, 2006).

Se han demostrado sus propiedades biorremediadoras al ser capaz de absorber metales pesados presentes en agua tales como el cadmio, arsénico y mercurio. (Gómez, 2014). También se busca utilizar *Eichhornia crassipes* como un potencial terapéutico tratando de aislar varios componentes bioactivos de esta variedad, y probándolos como potencial antimicrobiano, antifúngico, anti citotóxico, y anticancerígeno (Thamaraiselvi, 2012).

## **2.2. *Lemna gibba***

Es conocida como Lenteja de agua en todo el mundo por su parecido similar al grano de lenteja; es una pequeña planta acuática que forman esteras o tejidos densos en la superficie del cuerpo de agua (Celis, 2008). Se encuentran en diversos ecosistemas acuáticos como lagunas, ríos de flujo lento, y quebradas (Arroyane, 2004).

Esta especie macrófita es considerada como arvense en ecosistemas acuáticos, pero se ha demostrado que al implementar métodos de manejo adecuados y al

utilizar sus propiedades de proliferación, su capacidad de absorción de nutrientes y la bioacumulación de compuestos tóxicos, puede generar soluciones en los tratamientos de aguas residuales; convirtiéndolas en una herramienta natural para el mejoramiento de ecosistemas contaminados (Arenas, 2011).

Su distribución geográfica es universal, presente en varias regiones de los hemisferios norte y sur, ubicada principalmente en lagunas de agua dulce, ciénagas, lagos y ríos lentos (Ramírez, 2014).

### 2.2.1. Taxonomía

**Tabla 2. Taxonomía *Lemna gibba***

Reino	Plantae
División	Spermatophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Arales
Familia	Lemnaceae
Género	<i>Lemna</i>
Especie	<i>gibba</i>

### 2.2.2. Descripción Botánica

Estas plantas acuáticas presentan dos tipos de reproducción, sexual, en la cual normalmente se produce unión de gametos y fertilización como en otras plantas con flores y reproducción asexual, sin embargo, el primer tipo de reproducción es raro debido a la baja floración que presenta esta planta acuática (Córdoba, 2010). La reproducción asexual es la forma común de su reproducción, la cual consiste en

pequeñas gemaciones las cuales dan origen a nuevas Lentejas de agua, lo que le brinda la capacidad de aumentar su población y colonizar rápidamente los cuerpos de agua, además de convertirse en un problema tentativo de biomasa negativa para los espacios naturales que albergan a estos organismos (Centre for Ecology and Hydrology, 2022) (Ramírez, 2014).

### **2.2.3. Condiciones Edafoclimáticas**

Los rangos de temperatura donde crece esta planta oscila entre 6,2 °C-36,8°C y el desarrollo óptimo sería en la temperatura de 25,7 °C (Córdoba, 2010). El pH óptimo para el crecimiento está entre un rango de 4,5 °C-7,5 °C, estas plantas acuáticas soportan altas cantidades salinas, pero no integran en su estructura vegetal los iones sodio (Córdoba, 2010).

Se desarrollan en condiciones ambientales donde se presenta un aumento de las concentraciones de fósforo, nitrógeno y otros nutrientes donde prevalece la materia orgánica en descomposición (Ramírez, 2014). El hierro cumple una función única en el desarrollo adecuado de esta planta, ya que se considera un elemento limitante en su supervivencia (Arroyane, 2004).

Debido a que estas plantas son flotantes no sobreviven a movimientos mayores a 0,3 ms<sup>-1</sup>, siendo afectadas y eliminadas por inundaciones o consumidas por aves (Córdoba, 2010) por este motivo las condiciones deben ser tranquilas y sin corrientes de agua (Canales, 2010). Necesariamente, requieren de una fuente



constante de luz solar durante doce o catorce horas diarias, como mínimo para su desarrollo (Canales, 2010).

#### **2.2.4. Problema de biomasa de *Lemna* spp. y alternativas de solución**

En Perú se determinó la problemática ambiental que se encuentra presente en el Lago Titicaca, debido al aumento de eutrofización que surge a causa de un aumento en la entrada de aguas residuales al lago; generando un crecimiento de un organismo vegetal que lo denomina el autor *Lemna gibba*, comúnmente conocida como Lenteja de agua, la problemática radica en que la presencia y el aumento de ese organismo está generando daños ecológicos (Canales, 2010).

La reproducción exagerada de esta planta acuática y el cubrimiento de la superficie del lago generan una disminución de la capacidad fotosintética de las especies autóctonas como son algas y fitoplancton, además de microorganismos depuradores de contaminantes presentes también en el lago. La biomasa de *Lemna gibba* impide el contacto entre la luz solar y las especies fotosintéticas. En desacuerdo con el autor, que se refiere a este organismo como “ente negativo” y que debe ser eliminado; se propone una mejor solución en cuanto al manejo de la biomasa (Canales, 2010).

Gracias al crecimiento desmesurado que tiene en los diferentes cuerpos de agua su biomasa es aprovechable en el tratamiento de aguas residuales en sistema de

humedales naturales, ya que puede crecer en condiciones adversas, además de esto tiene la capacidad de absorber dentro de su estructura nitrógeno y fósforo disminuyendo estos dos elementos del agua, coadyuvando a la descontaminación de las aguas (Canales, 2010).

### **3. ANTIBIÓTICOS**

El término antibiótico fue utilizado por primera vez por Selman Waksman en el año 1942 el cual lo definió como, “toda sustancia química derivada o producida por microorganismos que tienen la capacidad a bajas concentraciones de inhibir el desarrollo o destruir las bacterias u otros microorganismos” (Waksman, 1942) pero en la actualidad no solo se utilizan sustancias químicas derivadas o producidas por microorganismos como antibióticos, por lo que esta definición debe ampliarse e incluir sustancias sintéticas similares que cumplen con el mismo objetivo (Bado, 2008) (Cordies, 1998).

Los antibióticos tienen distintas formas de clasificación en las que se puede encontrar:

- Mecanismo de acción: este es el mecanismo por el cual un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana (Bado, 2008).
- Espectro de acción: amplio que son los antibióticos que son eficaces sobre un amplio número de géneros y especies microbianas y reducido

los cuales son antibióticos que solo son activos sobre un grupo reducido de especies microbianas (Bado, 2008).

Los antibióticos también se pueden clasificar en 8 grandes grupos o familias:

- **Betalactámicos:** son un grupo de antibióticos de origen natural o semisintético que se caracterizan principalmente por tener en su estructura un anillo betalactámico, su acción es de amplio espectro tiene acción inhibitoria frente bacterias Gram positivas, Gram negativas y espiroquetas. Aunque se ha demostrado que no son efectivos si se utilizan en el tratamiento contra micoplasma, ya que estos en su estructura celular carecen de pared celular, tampoco se ha demostrado que tengan efecto inhibitorio ni sobre bacterias intracelulares como *Chlamydia* y *Rickettsia* (Bado, 2008) (Cordies, 1998).
- **Aminoglucósidos:** estos antibióticos se caracterizan por tener presencia de dos o más aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos a un anillo aminociclitol. Generalmente, son activos frente al género *Staphylococcus* exceptuando al *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativa (Bado, 2008) (Cordies, 1998).
- **Glicopéptidos:** se conoce como antibióticos que ejercen su acción sobre la pared bacteriana, pero tienen un espectro de acción reducido. Actualmente, hay dos antibióticos en uso clínico: vancomicina y teicoplanina. Actuando principalmente contra bacterias Gram positivas (Bado, 2008) (Cordies, 1998).

- **Macrólidos:** su forma de acción es unirse a la subunidad 50S del ARN ribosómico de manera reversible. Esta unión se forma gracias a la formación de puentes de hidrógeno entre diferentes radicales, hidroxilo del macrólido y determinadas bases del ARNr. Lo que provoca un bloqueo en las reacciones de transpeptidación y translocación (Bado, 2008) (Cordies, 1998).
- **Sulfonamidas:** los antibióticos pertenecientes al grupo sulfonamidas son de naturaleza bacteriostática y de amplio espectro. Las sulfamidas actúan como análogos estructurales del PABA, e inhiben competitivamente a la enzima dihidropteroato sintasa, y al bloquear la síntesis del ácido fólico, se inhibe el crecimiento y reproducción de los microorganismos (Bado, 2008) (Cordies, 1998).
- **Tetraciclinas:** se caracterizan por actuar principalmente como bacteriostáticos, son antibióticos de amplio espectro y se han convertido en unos de los antibióticos que poseen una aparición lenta de resistencia bacteriana (Bado, 2008) (Cordies, 1998).
- **Quinolonas (I, II, III, IV generación):** estas actúan en bacterias Gram positivas y Gram negativas, La mayor parte de las Quinolonas usadas en la clínica son del grupo de las fluoroquinolonas, caracterizadas por tener un grupo fluoruro en el anillo central, normalmente en posición 6 (Bado, 2008) (Cordies, 1998).
- **Polipéptidos:** su mecanismo de acción se basa a través de la inhibición de la síntesis proteica (Bado, 2008) (Cordies, 1998).

### **3.1. Antibióticos más usados en Colombia**

En la actualidad en Colombia se utiliza una gran variedad de antibióticos, en algunos estudios realizados de vigilancia epidemiológica se ha establecido cuáles de estos antibióticos son los que tienen mayor uso en los hospitales de Colombia: Amoxicilina, Dicloxacilina, Penicilina G benzatínica, Ampicilina, Trimetropin-sulfametoxazol, Cefalexina ,Cefradina, Ciprofloxacina, Norfloxacina, Doxiciclina, Eritromina, Gentamicina Nitrofurantoina (Villalobos, 2014) (Machado, 2009).

## **4. RESISTENCIA BACTERIANA**

En 1995, un informe de la Dirección General de Salud de Francia mostró que las infecciones nosocomiales habían originado cerca de 10.000 muertes por año (Gros, 1997).

En 1998, la Organización Mundial de la Salud (OMS) en la 51 Asamblea Mundial de la Salud definió la resistencia a los antimicrobianos como una amenaza mundial y un problema de salud pública y además dio las pautas para el tratamiento de los microorganismos resistentes a fármacos (OMS, 2011).

Desde entonces el control de antibióticos se ha reforzado en varias naciones del mundo y se han desarrollado programas de investigación, modelos de resistencia a los antibióticos y a partir de ellos el desarrollo de nuevas terapias.

Por otra parte, en Colombia, gracias a la Secretaria Distrital de Salud, el GREBO, entre otras instituciones y asociaciones científicas (Cifuentes, 2005, Villalobos, 2011), se elaboran diversos informes sobre la resistencia a antibióticos y en su último reporte se evidencia que esta resistencia ha estado marcada por diversos microorganismos resistentes y multiresistentes a gran variedad de antibióticos, entre estos reportes cabe destacar las bacterias como *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* la variedad más común que se reporta como SARM (*Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina), *Enterococcus faecium* (GREBO, 2018).

Además, en este informe se emite un numeral correspondiente a la levadura *Candida albicans*, que, a pesar de no pertenecer a ninguno de los dos grupos bacterianos citados, se menciona por su resistencia a los antifúngicos (GREBO, 2018).

#### **4.1. PRINCIPALES MECANISMOS DE RESISTENCIA MICROBIANA**

La resistencia bacteriana ocurre por diversos mecanismos, los cuales permiten que las células bacterianas puedan defenderse ante la acción antimicrobiana de los antibióticos (Livemore, 2012), esta resistencia puede estar dada por mecanismos intrínsecos-naturales (Hollenbeck, 2012) o por mecanismos adaptativos-evolutivos-moleculares (Bennet, 2008), es decir, las bacterias pueden carecer de un sitio blanco, como sucede con la pared celular del *Mycoplasma*, en función a los

betalactámicos (Liu, 2012), -ejemplo de resistencia intrínseca- mientras que si se habla de *Escherichia coli* con Betalactamasas de espectro extendido (ESBLs, por sus siglas en inglés) (Dhanji, 2011), se habla de una resistencia adquirida.

Los mecanismos por los cuales estos microorganismos son capaces de adquirir un tipo específico de resistencia son múltiples y variados y cambian entre especies microbianas, para el entendimiento de esto se mostrará a continuación algunos de los más importantes:

1. Resistencia transmisible: está mediada por mecanismos genéticos, es decir, es provocada por el intercambio de material cromosomal o extracromosomal entre las bacterias (Bennet, 2008) (Livemore 2012).
2. Por acción enzimática: Se producen una serie de enzimas capaces de unirse al sitio activo del antibiótico degradándolo (Livemore, 2012) (Tamma, 2011), un ejemplo de esto, son las betalactamasas descritas en los Gram negativos, que degradan el anillo betalactámico del antibiótico.
3. Alteraciones en la entrada y transporte del antibiótico: hay bacterias que son capaces de cambiar la conformación de sus porinas (punto de acceso del antibiótico) o disminuir el número de estas impidiendo que entre la suficiente cantidad de antibiótico necesario para ejercer su función antimicrobiana. También han desarrollado proteínas de transporte del antibiótico, permitiendo que este entre a la célula pero sea transportado por dichas moléculas y expulsado de la célula (Livemore, 2012) (Belkum, 2013), un ejemplo es la resistencia a fluconazol por *Candida albicans* por una sobreexpresión de transportadores activos de membrana que disminuyen la

concentración intracelular de los azoles, además de este mecanismo también puede darse la resistencia por acción enzimática específicamente una alteración en la enzima diana (lanosterol 14-a-desmetilasa) la cual es esencial en la permeabilidad de la membrana (Perea, 2000) (Gómez, 2010).

4. Cambio en la estructura del punto receptor: consiste en la alteración de los receptores a los cuales el antibiótico se une para ejercer su efecto antimicrobiano, ya sea por acción de las proteínas de membrana que cambian su estructura para imposibilitar el reconocimiento del antibiótico a la membrana (en caso de que el antibiótico tenga efecto catalítico sobre la membrana celular) o por mecanismos de replicación celular que intervienen en la síntesis de estas proteínas receptoras cambiando su estructura sin daño a la célula pero deja al antibiótico sin el mecanismo por el cual ejercer su acción (Livemore, 2012) (Hollenbeck, 2012).

#### **4.2. SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS PROCEDENTES DE PLANTAS COMO RESPUESTA A LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA**

Desde el descubrimiento de las primeras sustancias con actividad antimicrobiana, se conoce que en las plantas abundan compuestos que tienen la capacidad de lograr inhibir el crecimiento de patógenos. Gran parte de estos efectos biológicos en plantas está dado por fitocomplejos en donde se encuentran los diversos principios activos, al igual que moléculas con diversas actividades (Berdances, 1994). Algunas características de los fitocomplejos son:



5. Al aislar sus componentes pueden tener una acción mayor, transformada, mínima, o nula (Berdances, 1994).
6. Son elementos bioquímicos, dinámicos con interacción entre varios de sus componentes (Berdances, 1994).
7. La actividad biológica de sus compuestos es complementaria entre sí ((Berdances, 1994).

Dentro de estos fitocomplejos podemos encontrar gran variedad de compuestos o metabolitos que se han destacado por su eficiencia como antimicrobianos, entre estos cabe mencionar:

1. Quinolonas: son compuestos con capacidad de *Redox* de alto interés, debido a que en presencia de diversos componentes estas se reducen y oxidan, lo que implica la liberación de radicales libres, los cuales se han considerado responsables de causar daño a las membranas bacterianas (McMurry, 2008). Adicionalmente, la estructura química de estos compuestos le permite unirse a proteínas extra e intracelulares, anulando su función provocando muerte celular al microorganismo (Aricapa, 2009).
2. Flavonoides: estos compuestos se caracterizan por poseer dos anillos aromáticos unidos mediante tres átomos de carbono, existiendo reportes de más de cuatro mil tipos diferentes de flavonoides, los cuales se diferencian por el carbono 3 terminal. La actividad antimicrobiana de estos compuestos se ha estudiado por sus capacidades de interactuar con las moléculas de las membranas bacterianas, desestabilizando y causando lisis celular (Aricapa, 2009).

3. Alcaloides: son compuestos con gran variedad de estructuras químicas y es precisamente esta variedad de formas las que les confieren tan amplia actividad biológica (McMurry, 2008), de estos alcaloides muchos se conocen por su uso farmacéutico como la morfina y la cocaína (McMurry, 2008), además, se sabe que sus propiedades son capaces de interferir con la formación del ADN bacteriano como es el caso de la berberina (Nuñez, 2010).
4. Saponinas: estos compuestos tienen como base un núcleo espiroetano, siendo glúcidos que se unen con los esteroides resultantes del proceso de la ruta metabólica de la Acetil Coenzima en la ruta del ácido mevalónico y escualeno (sapogenina) (Hu, 1999). Se ha propuesto que la actividad antimicrobiana de las saponinas está dada por la capacidad de hacer catálisis sobre la membrana microbiana causando la lisis de los microorganismos (Hu, 1999).
5. Terpenoides: estos compuestos, al igual que los flavonoides, presentan gran variedad de formas químicas, conociéndose más de 35.000 tipos diferentes de terpenos. Los terpenoides se pueden encontrar en la parte mayoritaria de los aceites esenciales de las plantas en forma de monoterpenos, sesquiterpenos y triterpenos ejerciendo funciones variadas, entre las que cabe destacar la función de ser antimicrobianos (McMurry, 2008). Se presume que la actividad antimicrobiana está dada por la interacción de este tipo de compuestos con la membrana lipídica de las bacterias, dando lugar a la lisis celular (McMurry, 2008).

6. Fenoles: los fenoles son compuestos sencillos que tienen unido su grupo carboxilo a un anillo bencénico (McMurry, 2006). Se ha visto que el efecto antimicrobiano es directamente proporcional a la cantidad de grupos hidroxilos unidos al anillo bencénico (Aricapa, 2009), lo que se cree ocasiona una interacción con diferentes enzimas mediante mecanismos *Redox*, lo que ocasiona un efecto bacteriostático y bactericida en el microorganismo (Aricapa, 2009).

El efecto antimicrobiano también puede estar dado por diversas clases de ácidos, por ejemplo, los ácidos laurencios presentes en los frailejones (De los Rios, 1999), que presentan gran actividad inhibitoria contra ciertos patógenos. Existe gran variedad de compuestos aromáticos que tienen alguna actividad contra cierto tipo de microorganismos (Moreno, 2012).

También se encuentran Péptidos Antimicrobianos (*AMPs*, por sus siglas en inglés *Antimicrobial Peptides*), los cuales son proteínas conservadas de la respuesta inmune innata (Peter, 2010) (Akhatar, 2012), en otras palabras, son pequeñas moléculas procedentes de la interacción que puede tener lugar por la respuesta que tenga un hospedero ante un determinado patógeno. Los mecanismos por los cuales estos péptidos son capaces de ejercer su acción antimicrobiana se asemejan a la forma en cómo los antibióticos lo hacen, en la figura 7 se puede observar un modelo de los mecanismos de acción de dichos *AMPs*.

Se puede ver cómo las plantas pueden ser una alternativa en la búsqueda de sustancias que de alguna manera mitiguen los efectos causados por la resistencia de diversos patógenos a los antibióticos dado a sus propiedades y componentes.

## **5. EXTRACTOS VEGETALES**

Un extracto vegetal se puede definir como la mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos y químicos mediante la extracción sólido-líquido o líquido-líquido a partir de una fuente vegetal, utilizable en cualquier campo de la tecnología (Centro de patentes, Universidad Barcelona, 2013).

Los extractos en plantas, según la OMS, son el primer estudio que debe realizarse para hallar fármacos con algún tipo de actividad biológica de interés para determinar la viabilidad de estos procesos y de igual forma permitir un estudio incluyente de los posibles principios activos o complejos fitoterapéuticos que pueda poseer dicho ejemplar en estudio (Fernández, 2013), para esto es necesario desarrollar una serie de pasos que permitan saber la funcionalidad del extracto y su posibilidad de uso en la fitoterapéutica (Fernández, 2103).

Se ha podido calcular que cerca del 80% de la población mundial usan medicamentos tradicionales para atender sus problemas de salud, de los cuales más del 90% proceden de extractos vegetales o de sus principios activos (Akerere,

1993), esto se debe principalmente a la abundante concentración de diversas moléculas y compuestos fitoterapéuticos en las plantas (Martinez, 2011).

### **5.1. EXTRACCIÓN FITOQUÍMICA**

Este proceso se realiza mediante la separación de diversos metabolitos de naturaleza química variable, con el objetivo de conseguir fraccionar compuestos afines, con características y propiedades similares. La mayoría de los métodos del fraccionamiento usan las propiedades químicas de los compuestos que se desean obtener, especialmente las diferencias en polaridad y acidez-alcalinidad (Moreno, 2012).

### **5.2. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS**

Las técnicas de extracción son procedimientos que se utilizan para extraer diferentes tipos de sustancias orgánicas de material biológico como plantas, esponjas, microorganismos; estas técnicas de extracción son muy variadas, se pueden encontrar técnicas mecánicas como los procesos pelatrice y/o sfumatrice los cuales son utilizados principalmente para extraer aceites esenciales en procesos industriales, también existen técnicas de extracción con solventes como la percolación en frío, rotaevaporación o destilación, las cuales se basan en la capacidad que poseen ciertas sustancias para solubilizar algunos componentes que se encuentran en los organismos para luego concentrarlos, por último encontramos la extracción por medio de fluidos súper críticos la cual consiste en la separación de

metabolitos utilizando una sustancia la cual se lleva hasta un punto en el cual su presión y temperatura crítica es superada y por lo tanto esta sustancia se comporta como un gas y un líquido lo que permite que se puedan extraer ciertas sustancias sin afectar a las otras (Bisset, 1994) (Palomino, 2001).

### **5.2.1. Rotaevaporación**

Uno de los métodos más utilizados para obtener diversos extractos es la obtención por fraccionamiento fitoquímico y su posterior concentración por rotaevaporación, técnica que consiste en realizar una extracción primaria sólido a líquido, sólido es la parte de planta y el líquido es el solvente que sea haya escogido, seguida de una concentración por rotaevaporación obteniendo un extracto blando el cual se le hace una separación por polaridades con otros solventes orgánicos. Los productos obtenidos dependen del protocolo que se esté manejando, de manera tal que al final se obtengan varios extractos blandos cada uno concentrado por rotaevaporación (Martinez, 2011).

### **5.2.2. Percolación en frío**

La percolación en frío es un método de extracción sencillo que consiste en el uso de sustancias como el agua o los alcoholes con el fin de extraer sustancias biológicas, las cuales fácilmente se solubilizan en dichos compuestos, aunque industrialmente es un método de bajo rendimiento para análisis pequeños es de gran utilidad, existen diferentes elementos de laboratorio que permiten realizar una

percolación pero realmente lo que permiten es la rápida solubilización de un compuesto ya que el principio es el mismo. El proceso para llevar a cabo una percolación consiste en dejar secar el material biológico del cual se quieren extraer los compuestos, tritararlo y por último sumergirlo en el disolvente de elección con el fin de permitir que los compuestos deseados se solubilizan en el solvente (Benitez, 2020).

### **5.2.3. Destilación**

La destilación es una técnica que consiste en separar líquidos los cuales se encuentran concentrados en una disolución, la separación por lo general depende de la volatilidad que posea dicha solución, la técnica consiste en calentar un matraz el cual contiene en su disolución el compuesto a separar, el matraz está unido a un tubo el cual está frío y permite la condensación del líquido que se está evaporando para posteriormente depositarse en otro matraz sin que vuelva a mezclarse con la sustancia que se está separando (Guerrero, 1987).

## **6. MÉTODOS PARA VALORAR LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE COMPUESTOS AISLADOS EN PLANTAS**

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son usadas para valorar el efecto inhibitorio que presentan uno o más compuestos antibióticos respecto al crecimiento y/o viabilidad de las células microbianas (Cavalieri, 2005).

### **6.1. Método por dilución en tubo.**

Esta técnica permite determinar la concentración más baja del antibiótico a la cual inhibe el crecimiento bacteriano y se puede determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) que posee el antibiótico (Malbran, 2001), las técnicas para hallar la CMI son el Gold Estándar para establecer el efecto de antimicrobiano de una sustancia frente a algún patógeno, cada año se publica los parámetros establecidos por (CLSI) *Clinical and Laboratory Standards Institute* que dan la guía para realizar la prueba.

La técnica se basa en realizar diferentes concentraciones del antibiótico deseado mediante diluciones seriadas, posteriormente, cada tubo es inoculado con una concentración estándar de microorganismos, se incuba y luego se valora el crecimiento bacteriano en presencia de las diferentes concentraciones del antibiótico. Al final del experimento se puede observar una relación inversamente proporcional en relación a la concentración del antibiótico con el crecimiento microbiano (Cavaliere, 2005) (Malbran, 2011).

### **6.2. Método por Microdilución.**

Esta técnica permite determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) que tenga el compuesto de interés, la diferencia con la dilución en tubo radica en que esta técnica emplea microplacas en la cual se hacen diluciones del compuesto de interés a ensayar, estas cantidades son del orden de los microgramos,



posteriormente se realiza una suspensión del microorganismo a ensayar y se le agrega a las diferentes diluciones (concentraciones) del compuesto, estas placas se incuban según las necesidades de los microorganismos ensayados y posterior al tiempo de crecimiento requerido se efectúa la lectura mediante métodos colorimétricos (Malbran 2001) (NCCLS, 2000).

### **6.3. Método de difusión en disco- Kirby Bauer.**

Consiste en colocar, en agar Mueller Hinton el cual ha sido inoculado por siembra masiva con un microorganismo específico, un disco con forma y tamaño estandarizado, generalmente es de forma redonda con 6 mm de diámetro, el cual ha sido impregnado con un antibiótico a una concentración establecida según el interés del ensayo. Se incuba según las necesidades del crecimiento microbiano y se lee según la inhibición del microorganismo (Cavalieri, 2005) (Malbran, 2011). En este método se pueden colocar hasta seis discos en un mismo agar siguiendo los parámetros establecidos por el CLSI. (CLSI, 2014).

### **6.4. Método E Test.**

También conocido como método de papel impregnado, es una técnica mediante la cual se propaga un antibiótico contenido en papel o disco en un agar solido inoculado con un determinado tipo de microorganismo. La interpretación de los resultados se realiza mediante la medición de halos de inhibición que se forman en contorno al papel o el disco que contenía el antibiótico (Katzung, 2015).

## **7. VALORACIÓN AMBIENTAL**

En el artículo 80 de la Constitución Política de Colombia se insta que “El estado planificará el manejo y aprovechamiento de los recursos naturales, para garantizar su desarrollo sostenible, su conservación, restauración o sustitución. Además, deberá prevenir y controlar los factores de deterioro ambiental, imponer las sanciones legales y exigir la reparación de los daños causados”.

En la Ley 99 de 1993 en el artículo primero se establecen los principios generales de la política ambiental colombiana incorporando el fomento de los costos ambientales y la instrumentación de herramientas económicas para la restauración, prevención y represión del deterioro ambiental y conservación de la biodiversidad renovable, el numeral 43 del artículo quinto de esta ley decreta la responsabilidad del ministerio de fijar técnicamente las metodologías de valoración de los costos económicos de la conservación, el deterioro del ecosistema y los recursos renovables, para este fin se creó la Resolución 1478 de 2003 que establece la Guía Metodológica para la Valoración de Bienes, Servicios Ambientales y Recursos Naturales.

La biodiversidad y los recursos naturales renovables proporcionan utilidades económicas de gran importancia para la sociedad, un ejemplo es la alimentación, plantas medicinales, uso del suelo, uso hídrico, regulación del clima, protección contra desastres y como medio de esparcimiento. No obstante, el daño de la naturaleza y la amenaza creciente al ambiente, que se traduce en pérdida de

bienestar de la comunidad y en perjuicio económico, da como resultado que el uso de la valoración económica ambiental sea necesario para el mejoramiento en la gestión ambiental, cuantificando los costos asociados a los servicios ecosistémicos y al valor de los recursos naturales (Freeman, 1993).

El origen de la valoración económica se remonta a 1950, donde se hicieron ejercicios en los parques naturales de los Estados Unidos, y se ha logrado generar dos modelos de valoración indirecta y directa, los métodos indirectos son lo que evalúan los representantes económicos revisando el mercado actual un ejemplo son los costos de viaje, precios hedónicos, costos de reparación y de dosis respuesta y los métodos directos revisa la inclinación de los individuos mediante experimentación (Barzev, 2001).

El objetivo de los métodos de valoración es la tasación de la ganancia o la pérdida de medio ambiente relacionado con su daño o mejoramiento, generando valores cuantitativos a los recursos mediando por sus bienes o servicios, sin tener en cuenta si existe un valor en el mercado actual, ya que este puede ser basado en expectativas o especulaciones financieras (Convención Ramsar, 1997).

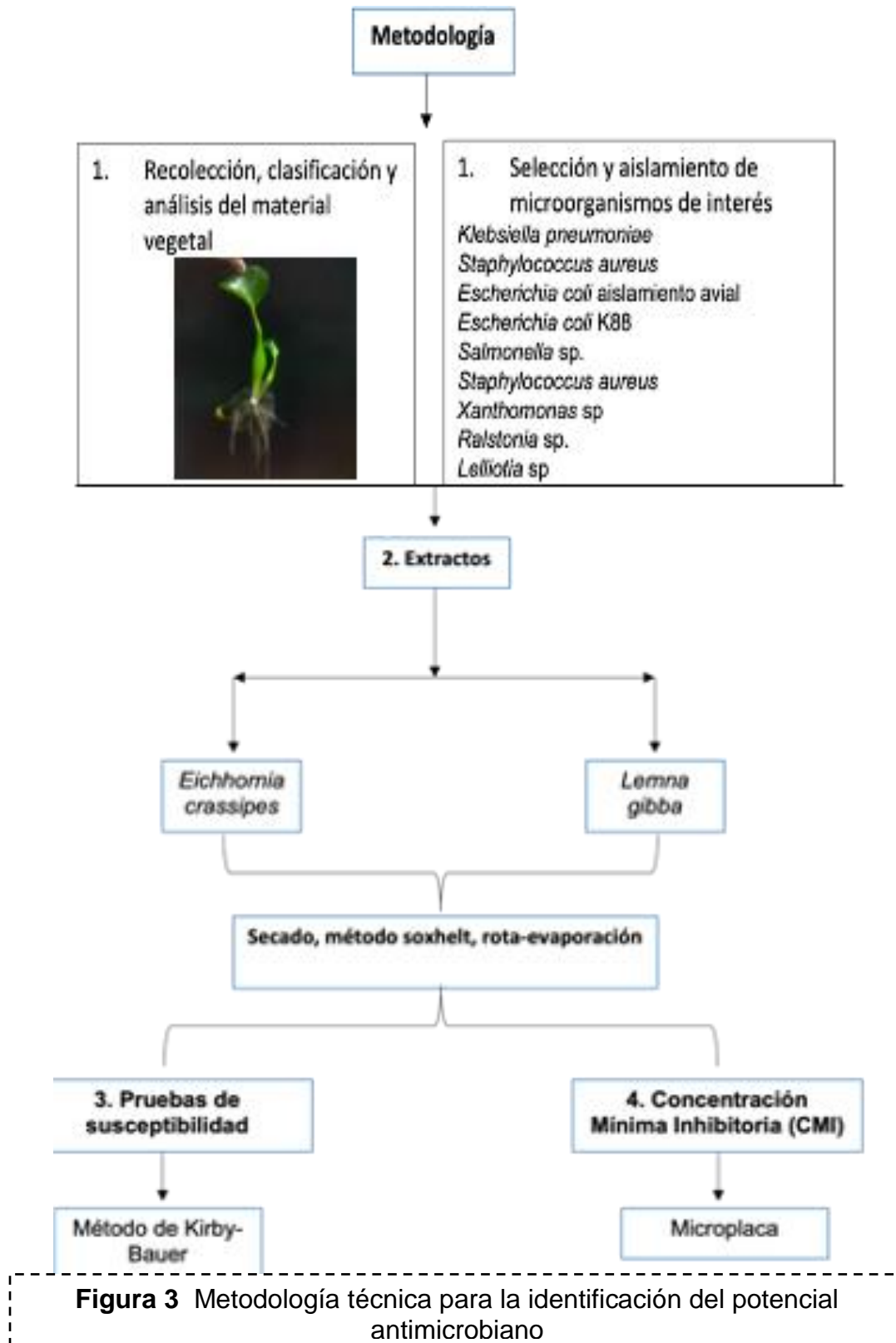
La valoración económica de los recursos naturales se realiza teniendo en cuenta la variación que existe en el bienestar público por un cambio en la calidad o cantidad de los servicios del ecosistema, para saber esto se debe tener en cuenta las probabilidades tanto positivas como negativas, la comunidad que está involucrada y el instrumento por el que se presenta los cambios, con este contexto se debe

establecer la metodología y tipo de valoración para que permita tasar los costos asociados a través de unidades monetarias, al tener este balance como unidad de valor puede integrarse en la toma de decisiones relacionadas con la puesta en marcha de algún proyecto ambiental o de infraestructura entre otros alcances que tiene la valoración (Figura 2)

ALCANCES DE LA VALORACIÓN ECONÓMICA AMBIENTAL		
Permite asignar valores monetarios a los bienes y servicios proporcionados por los recursos naturales, independientemente de si existen o no precios de mercado que ayuden a hacerlo.	Estima los beneficios y costos asociados a los cambios en los ecosistemas que afectan el bienestar social.	Genera información para la toma de decisiones relacionadas con la evaluación social de proyectos o políticas públicas; en particular, aquellas decisiones relacionadas con el aprovechamiento sostenible del ambiente y la conservación de los recursos naturales.

**Figura 2** Alcance de la valoración económica ambiental tomado de guía de aplicación de la valoración económica ambiental del Ministerio de

## CAPÍTULO III METODOLOGÍA



## 1. Recolección y clasificación del material vegetal

*Eichhornia crassipes* se obtuvo por donación del dueño de la finca “El Jardín” ubicada en la vereda de Chicaque, Municipio de San Antonio del Tequendama, departamento de Cundinamarca, donde esta planta crece libremente (Anexo 1).

Las muestras vegetales de *Lemna gibba* provenían de una finca ubicada en Mosquera, Cundinamarca y fue recolectada previo permiso de la propietaria.

La identificación y determinación de las muestras vegetales obtenidas se realizó en la Universidad Nacional de Colombia en la dependencia del Herbario Nacional Colombiano según los protocolos estandarizados por el Herbario (Anexo 2)

Para la elección del material se tuvo en cuenta los siguientes parámetros:

- Que no presentaran manchas, quemaduras, ni invasión por hongos ni bacterias en las plantas.
- Que se encontraran sanas o aparentemente sanas de la planta

Se utilizó los tallos y las hojas de cada planta sin separarse

### 1.1. Secado y molienda

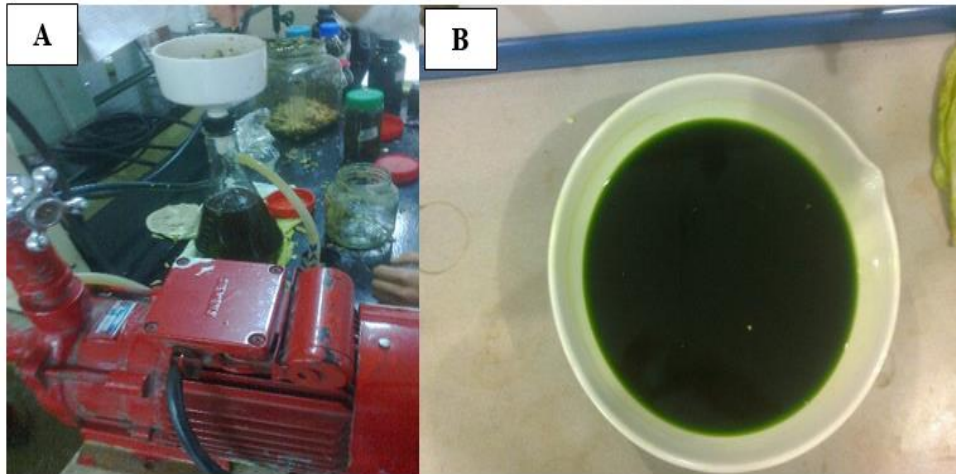
Las plantas se secaron en un horno indicado para dicho proceso entre un rango de temperaturas de 39 °C a 48 °C por un período de 4 días. Una vez las partes de las plantas se encontrarán totalmente secas, se trituraron sin mezclar ninguna parte.

## 2. Preparación de los extractos orgánicos

Los protocolos utilizados para obtención de los extractos de cada planta fueron determinados mediante diferentes métodos.

**Tabla 3. Protocolo de Extracción de extracto por uso**

Uso del extracto	<i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i>
Humano	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Para realizar la extracción con etanol de las plantas a ensayar se depositó todo el material seco y molido (250 g entre hojas y tallos) en recipientes de vidrio limpios y libres de contaminantes y se procedió a agregar 500 ml de etanol, esto se dejó libre de luz y sellado por 8 días.</li> <li>2. Una vez se cumplieron los 8 días se procedió a filtrar todo el material mediante el sistema al vacío hasta obtener la mayor cantidad de extracto etanólico posible.</li> <li>3. Una vez se obtuvo el extracto etanólico se procedió a rotaevaporar en el equipo Eyela®, a 175 mbar a 40 °C, hasta obtener un extracto blando.</li> <li>4. El producto final se pesó, se envasó en viales ámbar y se almacenó en refrigeración.</li> </ol>
Animal	<ol style="list-style-type: none"> <li>3. Como solvente de extracción, se utilizó una mezcla de Metanol <math>\text{CH}_4\text{O}</math>: Cloruro de Metileno <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math> 1:1 con el objetivo de obtener extractos que contenían metabolitos de diferente polaridad.</li> <li>4. La extracción se realizó por Método Soxhlet, teniendo tres ciclos de extracción (ebullición del solvente y contacto con el material vegetal).</li> <li>5. Posteriormente se realiza la rota evaporación, con el fin de obtener extractos libres de solventes, por medio de los equipos Eyela® y Heidolph a 71 mbar, 134 rpm y 35.2°C.</li> </ol>
Vegetal	<ol style="list-style-type: none"> <li>3. Se adicionó el solvente, en este caso se utilizó diclorometano, hasta cubrir completamente el material vegetal dentro del recipiente. Se tapó y se dejó reposar durante 24 horas.</li> <li>4. Posterior a 24 horas de reposo se filtró el material vegetal, realizando un filtrado por papel filtro. Se recuperó el solvente con ayuda de un rota evaporador. Este proceso se repitió 3 veces.</li> <li>5. El producto final se pesó, se envasó en viales ámbar y se almacenó en refrigeración.</li> </ol>



**Figura 4** Proceso de filtrado mediante sistema al vacío. A: Equipo usado para el proceso de filtración. B: extractos etanolicos obtenidos sin rotaevaporar. Rodríguez, C. Zarate, A. 2014.

### 3. Ensayos antimicrobianos

La actividad antimicrobiana de los extractos de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* se evaluó contra diferentes patógenos aislados de muestras y se dividen según su origen, y fueron solicitadas al cepario de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, este cepario identifica con pruebas bioquímicas (BBL CRYSTAL) los diferentes microorganismos para conocer género y especie en caso de que el kit lo permita.

**Tabla 4** microorganismos y su origen evaluados

Origen del aislamiento	Microorganismo
Humano	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Animal	<i>Escherichia coli</i> aislamiento avial <i>Escherichia coli</i> K88



	<i>Salmonella</i> sp. <i>Staphylococcus aureus</i>
Vegetal	<i>Xanthomonas</i> sp <i>Ralstonia</i> sp. <i>Lelliottia</i> sp

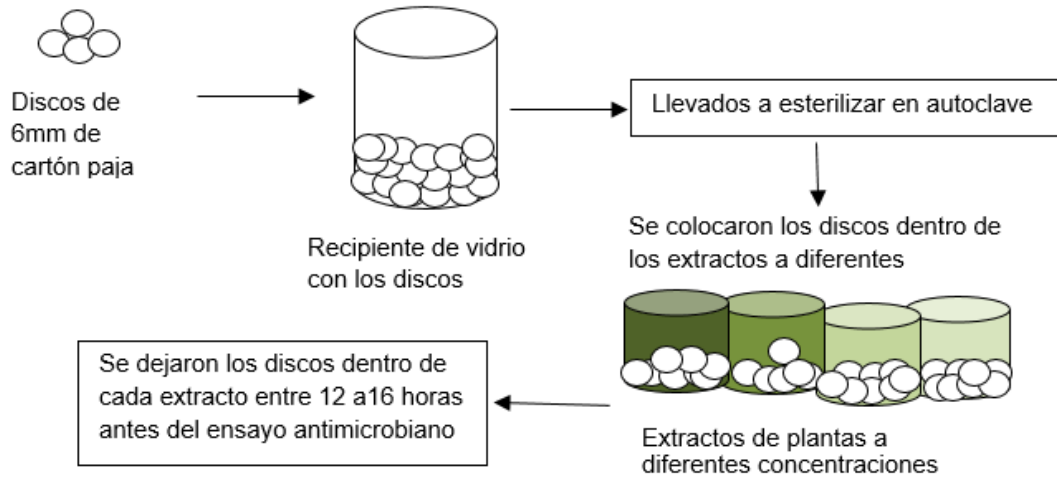
Para valorar la actividad antimicrobiana de los extractos de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* se realizaron ensayos por triplicado de cada parte de las plantas frente a los microorganismos de interés.

### 3.1. Concentraciones de los extractos.

Para hallar el peso inicial de cada extracto de las diferentes partes de las plantas, se realizó un pesaje en balanza analítica de cada uno, se tomó un peso cercano al peso total de cada extracto ya rotaevaporado y seco para realizar diluciones seriadas de cada extracto. Se realizaron concentraciones de 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml y 100 µg/ml de cada extracto de las plantas (Branco, 2011).

Como diluyente de los extractos concentrados se utilizó 1 ml (1000 µl) de Dimetilsulfóxido (DMSO) debido a sus propiedades químicas tales como permitir separar compuestos polares de apolares, fácil absorción en diferentes tipos de matrices y esterilidad (Branco, 2011).

### 3.2. Preparación de los sensidiscos para valorar la actividad antimicrobiana.



**Figura 5.** Esquema del proceso para la preparación de los sensidiscos utilizados para evaluar las concentraciones de los extractos de las plantas en los ensayos antimicrobianos.

Para los ensayos antimicrobianos se utilizaron discos de cartón paja blanco de 6 mm de diámetro, estos fueron esterilizados en autoclave, posterior se impregnaron con diferentes concentraciones de cada extracto diluidos en dimetilsulfóxido y se dejaron entre 12 a 16 horas dentro de cada extracto.

### 3.3. Inoculación y siembra.

Se realizaron inóculos de cultivos puros de cada microorganismo ensayado con escobillón estéril en solución salina estéril al 0.85% hasta obtener una escala Mc Farland de 0,5 la cual fue comparada en espectrofotómetro a una longitud de onda de 625 nm hasta obtener un valor entre 0.09 a 0.1 en el equipo (Branco, 2011).

Se realizó siembra masiva y por duplicado en agar Mueller Hinton esto atendiendo a los requerimientos de los microorganismos y a los parámetros del *CLSI* (CLSI, 2000).

La actividad antifúngica fue evaluada según la técnica descrita por Madubunyi 1995, en la cual, a partir de un microorganismo incubado en agar PDA, se le añaden 10 mL, de caldo Mueller Hinton, se agita y se filtra utilizando gasa estéril. A esta solución que contiene los conidios se inoculara sobre una caja de Petri con 25 ml agar Mueller Hinton en una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios/mL (Madubunyi, 1995).

Los sensidiscos antes de ser colocados sobre cada agar se dejaron entre quince minutos y treinta minutos en cabina de flujo laminar antes de ser dispuestos sobre los agares, esto con el fin de que el DMSO se evaporará. La actividad antimicrobiana se evaluó midiendo los halos de inhibición generada por cada sensidisco, las pruebas se realizaron por triplicado, se realizó un análisis de media, coeficiente de variación, desviación estándar e incertidumbre.

### **3.4. Controles de pruebas**

Los controles utilizados fueron los siguientes:

1. Control de crecimiento: a cada microorganismo se les realizó una siembra por agotamiento (del mismo tubo donde se realizó el inóculo) en Mueller Hinton 0 PDA según las necesidades de cada microorganismo, y se les dio

las mismas condiciones de desarrollo que a los microorganismos testeados. Esto se hizo con el fin de verificar la viabilidad y pureza de cada microorganismo.

2. Control de sensibilidad: a cada microorganismo se le realizaron pruebas de susceptibilidad con antimicrobianos comerciales, según correspondiera al tipo de microorganismo.
3. Controles blancos con solventes orgánicos: se realizaron controles con: Etanol, mezcla de Metanol  $\text{CH}_4\text{O}$ : Diclorometano  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  , DMSO y un sensidisco estéril sin ningún solvente, los cuales fueron testeados contra cada microorganismo ensayado.

Las lecturas de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana se realizaron entre las 18 a 20 horas siguientes a su incubación, se midieron los halos de inhibición presentes en la zona donde fueron colocados los discos impregnados con las diferentes concentraciones de los extractos de las plantas. Esto se hizo de acuerdo a los parámetros del CLSI (CLSI, 2014)

### **3.5. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)**

Es método de referencia para el estudio de actividad antimicrobiana así como CMI según protocolos de CLSI (Malbran, 2012). En microplacas de ELISA estériles de 96 pocillos. Se agregó caldo Mueller Hinton, concentración de los extractos e inóculo de cada microorganismo. En la primera columna de pocillos, se agregó 200 ul de

los extractos a una concentración de 2000 ppm de cada extracto lo que equivale a 2000 µg/ml, en la segunda columna hasta la fila 12 se agregó 100 µl de caldo Mueller Hinton, y según protocolo se realizaron diluciones 1:2 hasta la columna 10 de cada extracto (Malbran, 2012).

El inóculo se tomó de colonias con 24 horas de crecimiento y garantizando su pureza, en tubos estandarizados con solución diluyente obteniéndose una suspensión bacteriana de 0.5 de McFarland ( $1 \times 10^8$  UFC/ml). Se agregó 10 µl a cada columna desde la 1 hasta 11 fila E. Las columna 11 hasta la fila E se tomaron como control positivo agregando caldo Mueller Hinton e inóculo y observándose el crecimiento microbiológico y tomándose como (Control positivo). La columna 12 se tomó como control negativo al cual se le agregó solo caldo sin ningún inóculo el cual al no haber crecimiento se toma como (Control Negativo). Se realizó incubación de las microplacas durante 24 horas a 37 °C.

Las lecturas de las microplacas se realizaron por mínima concentración en la cual se observa el crecimiento comparando con los controles positivo y negativo, las pruebas se realizaron por triplicado, se realizó un análisis de media, coeficiente de variación, desviación estándar e incertidumbre.

#### 4. Valoración económica ambiental

Se utilizará como base la guía de aplicación de la valoración económica ambiental del Ministerio de Ambiente, que divide en tres fases la aplicación de la valoración económica y cada fase la divide en diferentes pasos, esta valoración es estimada y teórica no corresponde a un valor real.

**Tabla 5. Fases de Valoración económica y etapas**

<b>PRIMERA FASE</b>	<b>SEGUNDA FASE</b>	<b>TERCERA FASE</b>
<b>Fase de identificación y caracterización</b>	<b>Fase de selección de la metodología de evaluación</b>	<b>Fase de aplicación de la metodología de valoración y estimación del valor</b>
•Caracterización del problema de interés	•Establecer la necesidad de estimar valores de uso o valores de no uso.	•Revisar las mejores prácticas para encontrar valores confiables
•Identificación del objetivo	•Seleccionar la metodología de valoración más adecuada	•Selección de la muestra en caso de requerirlo
•Definición del ámbito de aplicación	•Conseguir la mejor información disponible y evaluar su calidad	•Minimizar los sesgos y las posibles fuentes de errores:
•Identificación y priorización de los servicios ecosistémicos		•Interpretación de los resultados
•Identificación y caracterización de la población involucrada		
•Búsqueda de la relación más idónea entre los		

servicios ecosistémicos y los cambios en el bienestar de la población		
---	--	--

## 5. Análisis de aplicación y de mercado

El análisis de aplicación está basado en los resultados más óptimos de los extractos frente a los patógenos estudiados y es una proyección de un modelo no correspondiente a valores reales del mercado. El análisis se realizó en diferentes etapas

**Tabla 6. Etapas de Análisis de Aplicación y de mercado**

ANÁLISIS	ETAPA
APLICACIÓN	-Análisis de factores tecnológico
	-Definición de producto
MERCADO	-Entendimiento del sector productivo
	-Reconocimiento de la competencia
	-Análisis de clientes potenciales

## 6. Transferencia de conocimiento y tecnología

En este apartado se utilizan datos de proyección positivos que permitan el flujo de trabajo desde la recolección del bien hasta su uso comercial con el fin de lograr que la transferencia de conocimiento y tecnología llegue a la comunidad, la transferencia

de conocimiento y tecnología se sistematizó siguiendo las siguientes etapas y su desarrollo.

**Tabla 7. Etapas y ejecución de la transferencia de conocimiento**

<b>ETAPA</b>	<b>EJECUCIÓN</b>
Preparatoria	Limitación de alcance
Desarrollo	Contacto con la comunidad
Transferencia	Síntesis y definición de actividades



## CAPÍTULO IV RESULTADOS

Los resultados obtenidos son evidenciados acorde al origen de aislamiento de los microorganismos testeados en los ensayos antimicrobianos, se muestra la media de los resultados por triplicado.

En la tabla 8 se evidencian los resultados obtenidos con los extractos de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* para los microorganismos aislados en humanos en la prueba de difusión en disco.

**Tabla 8. Inhibición de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia clínica humana por Difusión en Disco**

Planta Testeada	Concentración	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. crassipes</i>	1500 µg/ml	14 mm	17 mm	10 mm
	750 µg/ml	11 mm	12 mm	9 mm
	375 µg/ml	11 mm	12 mm	7 mm
	187,5 µg/ml	10 mm	6 mm	6 mm
<i>L. gibba</i>	226 µg/mL	7 mm	6 mm	6 mm
	113 µg/mL	4 mm	4 mm	5 mm
	56.5 µg/mL	4 mm	4 mm	5 mm
	28.2 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm

Los resultados obtenidos de los extractos de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*, evidencian que en las dos plantas, a mayor concentración presentan mayor inhibición frente a cada microorganismo testeado.

También se muestra que para *E. crassipes* la mejor inhibición fue contra *E. coli* (17,5 mm) a una concentración de 1500  $\mu\text{g/ml}$  que si bien es una concentración alta en comparación a *L. gibba* cuya concentración más alta fue de 226  $\mu\text{g/mL}$  (6 mm) para el mismo patógeno. Por su parte la mejor inhibición obtenida para *L. gibba* fue frente a *Klebsiella pneumoniae* (7 mm) a una concentración de 226  $\mu\text{g/mL}$  que en comparación con *E. crassipes* para el mismo patógeno fue de 14 mm. Cabe resaltar que es llamativo que los extractos de las plantas presentan actividad antibacteriana frente a cepas de interés clínico humano.

La desviación estándar de los resultados estuvo entre 0 y 0.81, el coeficiente de variación entre 0 y 10% y la incertidumbre entre 0 y 4, por lo que se aceptan los datos al no existir diferencias significativas

En la tabla 9 se observan los resultados de los antibióticos comerciales para cada microorganismo ensayado usados como control contra los patógenos de origen humano

**Tabla 9. Antibióticos de control utilizado en la prueba de Difusión en Disco de patógenos de origen humano**

	Ceftriaxona	Eritromicina	Amoxicilina	Penicilina	Trimetropin Sulfa
<b>Concentración/ microorganismo</b>	30 µg/disco	15µg/disco	25µg/disco	100 unds/disco	25µg/disco
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16 mm	10 mm	6 mm	6 mm	10 mm
<i>Escherichia coli</i>	40 mm	15 mm	22 mm	6 mm	34 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	26 mm	10 mm	6 mm	6 mm	6 mm

En la tabla 10 se observan los resultados obtenidos de CMI para cada planta y patógeno de importancia humana testeado.

**Tabla 10. CMI de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia clínica humana**

Planta Testeada	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (CMI)	<i>Escherichia coli</i> (CMI)	<i>Staphylococcus aureus</i> (CMI)
<i>E. crassipes</i>	187,5 µg/ml	187,5 µg/ml	187,5 µg/ml
<i>L. gibba</i>	28.2 µg/ml	14.1 µg/ml	14.1 µg/ml

La CMI obtenida para *E. crassipes* fue más alta para cada microorganismo que la obtenida con *L. gibba*, lo que resulta interesante dado a que la CMI es casi 10 veces más entre los extractos de cada planta. Para *K. pneumoniae*, *E. coli* y *S. aureus* se observó una CMI de 187,5 µg/ml, mientras que para *L. gibba* la CMI fue de 14.1 µg/ml para *E. coli* y *S.aureus*, mientras que para *K. pneumoniae* fue de 28.2 µg/ml. Los controles negativos validaron cada test realizado.

La desviación estándar de los resultados están en el 0 el coeficiente de variación entre 0 y 1% y la incertidumbre entre 0 y 0.5, por lo que se aceptan los datos al no existir diferencias significativas

En la tabla 11 se observan los resultados obtenidos de los extractos vegetales frente a los patógenos de importancia en salud animal.

**Tabla 11. Inhibición de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia animal por Difusión en Disco**

Planta Testeada	Concentración	<i>Escherichia coli</i> aislamiento avial	<i>Escherichia coli</i> K88	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. crassipes</i>	1000 µg/ml	6 mm	6 mm	6 mm	8 mm
	500 µg/ml	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
	250 µg/ml	No inhibición	No inhibición	No inhibición	No inhibición
	125 µg/ml	No inhibición	No inhibición	No inhibición	No inhibición
<i>L. gibba</i>	1000 µg/ml	6 mm	6 mm	6 mm	10 mm
	500 µg/ml	No inhibición	6 mm	6 mm	6 mm
	250 µg/ml	No inhibición	No inhibición	No inhibición	No inhibición
	125 µg/ml	No inhibición	No inhibición	No inhibición	No inhibición

Los resultados observados establecen que la mejor inhibición obtenida para el extracto de *E. crassipes* y de *L. gibba* fue a una concentración de 1000 µg/ml frente

a *S. aureus* con halos de 8 mm y 10 mm respectivamente, aunque no presentaron diferencias significativas.

La desviación estándar de los resultados estuvo entre 0 y 0.81, el coeficiente de variación entre 0 y 10% y la incertidumbre entre 0 y 4, por lo que se aceptan los datos al no existir diferencias significativas.

En la tabla 12 se prueban los resultados de los antibióticos comerciales para cada microorganismo ensayado usado como control contra los patógenos de origen animal.

**Tabla 12. Antibióticos de control utilizado en la prueba de Difusión en Disco de patógenos de origen animal**

Microorganismo	AK	AMP	CTX	CN	CRO	KZ	SXT
<i>E. coli</i> aislamiento avial	28 mm	0 mm	28mm	20mm	28mm	24mm	NA
<i>E. coli</i> K88	32 mm	0mm	32mm	10mm	30 mm	23mm	NA
<i>Salmonella</i> sp.	17mm	0 mm	18mm	30mm	23mm	0 mm	NA
<i>Staphylococcus aureus</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	22 mm
AK: Amikacina, AMP: Ampicilina, CTX: Cefotaxima, CN: Gentamicina, CRO: Ceftriaxona, KZ:Cephazolina, SXT: TRimpetropim sulfa							

La tabla 13 demuestra los resultados obtenidos de CMI para cada planta y patógeno testeado

**Tabla 13. CMI de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia de origen animal**

Planta Testeada	<i>Escherichia coli</i> aislamiento avial (CMI)	<i>Escherichia coli</i> K88 (CMI)	<i>Salmonella</i> sp. (CMI)	<i>Staphylococcus aureus</i> (CMI)
<i>E. crassipes</i>	250 µg/ml	250 µg/ml	187,5 µg/ml	62,5 µg/ml
<i>L. gibba</i>	250 µg/ml	250 µg/ml	250 µg/ml	31,25 µg/ml

La CMI varía entre cada extracto de las plantas, siendo las menores obtenidas de *E. crassipes* y *L. gibba* para *S. aureus* con 62,5 µg/ml y 31,25 µg/ml respectivamente la CMI, lo que indica que para las cepas procedentes del área animal los extractos presentaron mejor actividad para las bacterias Gram positivos.

La desviación estándar de los resultados estuvo entre 0 y 0.81, el coeficiente de variación entre 0 y 10% y la incertidumbre entre 0 y 4, por lo que se aceptan los datos al no existir diferencias significativas

La tabla 14 evidencia la actividad de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos del área vegetal en la difusión en disco.

**Tabla 14 Inhibición de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia vegetal por Difusión en Disco**

<b>Patógeno</b>	<b><i>E. crassipes</i></b>	<b><i>L. gibba</i></b>
<i>Xanthomonas</i> sp	7 mm	6 mm
<i>Ralstonia</i> sp.	10 mm	7 mm
<i>Lelliotia</i> sp	6 mm	6 mm
Las concentraciones ensayadas fueron una sola de 20 µg/µl		

Los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* evidencian una escasa actividad frente a los patógenos de importancia vegetal, siendo el extracto de *E. crassipes* el que mejor inhibición presentó (10 mm) para *Ralstonia* sp.

La desviación estándar de los resultados estuvo entre 0 y 0.81, el coeficiente de variación entre 0 y 10% y la incertidumbre entre 0 y 4, por lo que se aceptan los datos al no existir diferencias significativas

En la tabla 15, se muestra la CMI obtenida para los patógenos de importancia vegetal.

**Tabla 15. CMI de los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* frente a patógenos de importancia de origen vegetal**

<b>Patógeno</b>	<b><i>E. crassipes</i></b>	<b><i>L. gibba</i></b>
<i>Xanthomonas</i> sp	40 µg/ml	5 µg/ml
<i>Ralstonia</i> sp.	40 µg/ml	2,5 µg/ml
<i>Lelliotia</i> sp	40 µg/ml	1,25 µg/ml

Los resultados obtenidos evidencian que *L. gibba* presentó CMI de 1,25 µg/ml para *Lelliotia* sp. siendo esta la menor CMI evidenciada en todos los ensayos, adicional, las inhibiciones del extracto de *E. crassipes* presentó CMI de 40 µg/ml frente a todos los patógenos ensayados.

La desviación estándar de los resultados estuvo entre 0 y 0.81, el coeficiente de variación entre 0 y 10% y la incertidumbre entre 0 y 4, por lo que se aceptan los datos al no existir diferencias significativas

Teniendo en cuenta los resultados de los extractos vegetales frente a los patógenos de origen animal, vegetal y humano, se puede establecer que si existe un mecanismo de acción con potencial antimicrobiano, el uso de la biomasa de las especies *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* puede ser utilizada con un posible uso biotecnológico, permitiendo el aprovechamiento de especies invasoras y la oportunidad de generación de ganancias, para este fin es necesario realizar una



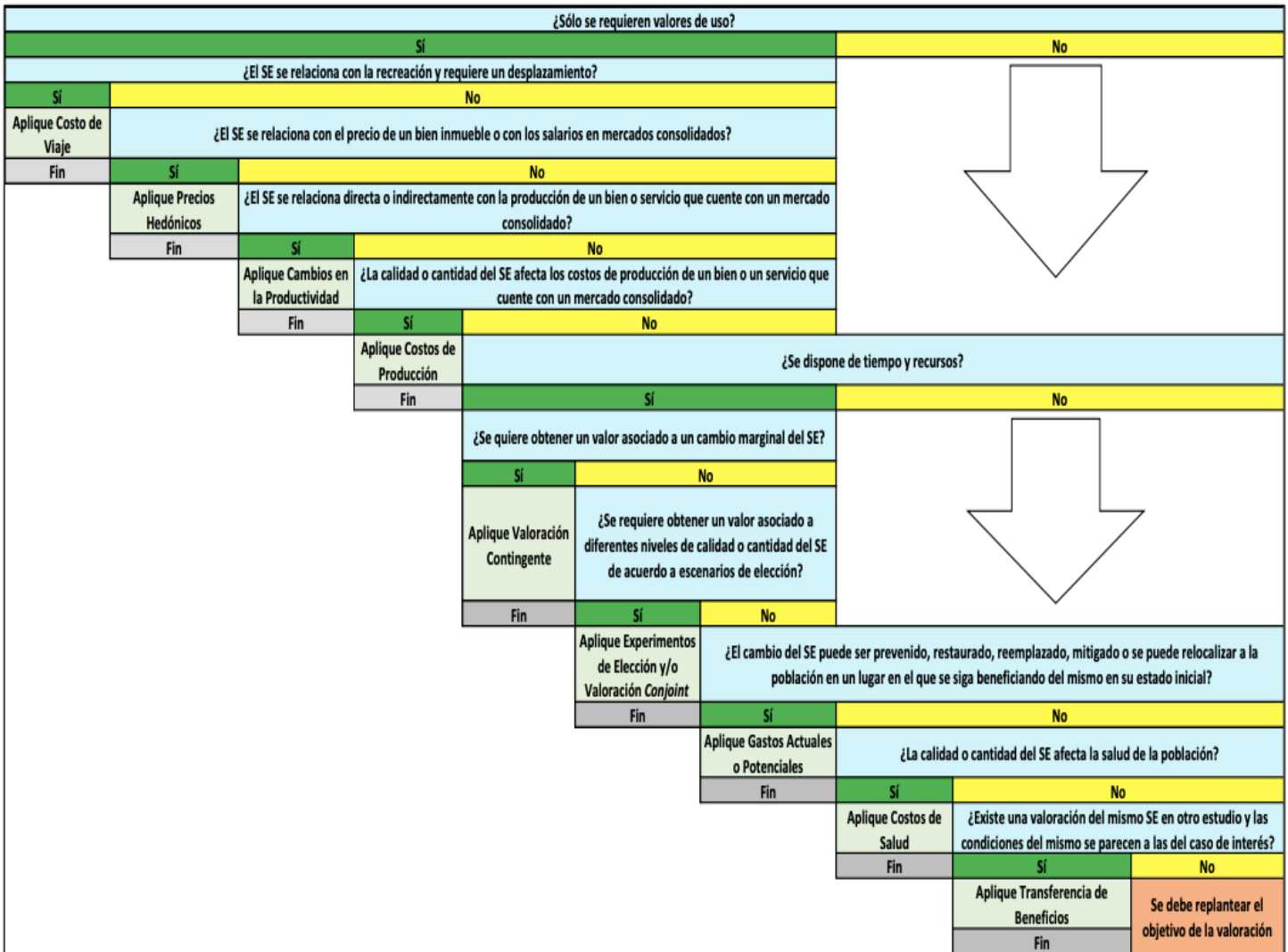
valoración económica del bien, un análisis de aplicación y una transferencia de conocimiento hacia la comunidad, cumpliendo con todos los parámetros establecidos para hacer bioprospección, los análisis realizados se basan en un modelamiento teórico.

En las tablas 16, 17 y 18 se evidencia las 3 fases de la valoración económica de los bienes.

**Tabla 16. Primera fase de valoración ambiental “Fase de identificación y caracterización”**

<b>Etapas</b>	<b>Desarrollo</b>
Problema de interés	Uso y manejo de plantas invasoras <i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i> que causan daño ambiental en los cuerpos de agua que pueden tener algún tipo de interés biotecnológico.
Objetivo	Evaluar alternativas de uso del material biológico y establecer un incentivo para compensar a la población cercana del cuerpo del agua.
Ámbito de aplicación	Cuerpos de agua de la finca “El Jardín” ubicada en la vereda de Chicaque, San Antonio de Tequendama.
Servicios ecosistémicos	Al ser dos especies invasoras no ofrecen un servicio ecosistémico en específico, por el contrario el retiro de estas especies ayudarían en la regulación del agua y la purificación del lago.
Población involucrada	Agricultores y personas que utilizan el cuerpo de agua como fuente de riego o viven alrededor de la finca “El Jardín”.
Relación más idónea entre los	El daño ambiental provocado por el masivo crecimiento de las plantas invasoras afecta directamente la oxigenación del cuerpo de agua al

servicios ecosistémicos y los cambios en el bienestar de la población	crecer como un tapete sobre el agua, además afecta el crecimiento de plantas nativas y animales al no tener acceso directo a los rayos del sol y que no pueden alimentarse ni consumir esta agua, estas especies son retiradas de forma manual y son desechadas directamente a la basura, el aprovechamiento de esta biomasa mejora el estado actual del lago y reduce la producción de basura.
---	---



**Figura 6.** Mapa de decisión para la selección de la metodología de valoración tomado de “Guía de aplicación de la valoración económica ambiental”

**Tabla 17. Segunda fase de valoración ambiental “Fase de selección de la metodología de evaluación”**

Etapa	Desarrollo
Estimación en valores de uso o valores de no uso.	El valor estimado de las plantas invasoras esta dado en su no uso, específicamente al de la existencia de su biomasa y el aprovechamiento por la cantidad de especie disponible
Metodología de valoración más adecuada	Utilizando el Mapa de decisión para la selección de la metodología de valoración tomado de “Guía de aplicación de la valoración económica ambiental” figura 6, se escoge como método de valoración más adecuado <b>La Valoración Contingente</b> debido a que con este método se estima los cambios en el bienestar de las personas producto de cambios en un recurso natural o servicio ecosistémico
Explicación de la valoración	<p>La valoración contingente ambiental es una metodología utilizada en economía ambiental para estimar el valor económico de bienes o servicios ambientales que no tienen un mercado establecido.</p> <p>Estos bienes o servicios pueden incluir aspectos como la conservación de especies en peligro de extinción, la protección de ecosistemas naturales o la mejora de la calidad del agua.</p> <p>La valoración contingente ambiental se basa en la idea de que los individuos pueden expresar su disposición a pagar (DAP) o su disposición a aceptar (DAA) cierta cantidad de dinero para mantener o mejorar un bien o servicio ambiental. Se utiliza para medir el valor que las personas asignan a estos aspectos ambientales, lo que puede ayudar a tomar decisiones informadas sobre políticas y proyectos que afectan el medio ambiente.</p>

Calidad y disponibilidad de la información	La información necesaria para llevar a cabo la valoración es por medio de encuestas teniendo en cuenta el tamaño de la población y la confiabilidad de la muestra formulándolas de manera clara y sencilla, en esta encuesta se plantea una premisa hipotética sobre los servicios o recursos ecosistémicos estableciendo los beneficios o impactos negativos que pueda derivar el uso de la especie y se les pregunta cuánto estarían dispuestos a pagar o aceptar para obtenerlo o conservarlo. A partir de las respuestas de los encuestados, se obtiene una estimación del valor económico.
--	---

**Tabla 18. Tercera fase de valoración ambiental “Fase de aplicación de la metodología de valoración y estimación del valor DAA Y DAP”**

Etapa	Desarrollo
Prácticas para encontrar valores confiables	Encuesta de 6 preguntas en las que se establece un escenario hipotético en el uso de la biomasa de las especies, que permite un acercamiento inicial a la población cercana del cuerpo de agua
Selección de la muestra	Se realizaron 10 encuestas teniendo en cuenta dos familias cercanas al cuerpo de agua, lo que permite un primera aproximación y teniendo en cuenta que es la población más cercana al cuerpo de agua
Construcción de la encuesta	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Cuál es su situación laboral ¿Tiene trabajo?</li> <li>2. ¿Cuál es su nivel académico?</li> <li>3. ¿Qué tipo de actividad realiza a mediación del cuerpo de agua presente en la vereda? <ol style="list-style-type: none"> <li>a) Agricultura</li> <li>b) Turismo</li> <li>c) Vivienda</li> </ol> </li> <li>4. ¿Qué cambios físicos ha visto en los últimos años en la laguna?</li> <li>5. En caso de intervención de la laguna ¿Cuál cree será el beneficio para usted y su familia</li> <li>6. ¿Cuánto considera debe recibir su familia por el retiro de las plantas buchón de agua y lenteja de arroz por kilogramo seco que están dentro de su propiedad?</li> </ol>

Cálculo del DAA	En el caso de este estudio se busca valorar el DAA que estaría dispuesta a recibir la comunidad por la venta y mantenimiento del bien.
Cálculo del DAP	Para determinar el DAP se estimara con los costos hedónicos de quien compraría el material biológico.

## Resultada Encuesta

**Pregunta:Cuál es su situación laboral ¿Tiene trabajo?**

Tiene trabajo	Frecuencia absoluta	Frecuencia porcentual	Frecuencia relativa
Si	7	70%	0,7
No	3	30%	0,3
Total	10	100%	1

**Pregunta: ¿Cuál es su nivel académico?**

Variables	Frecuencia absoluta	Frecuencia porcentual	Frecuencia relativa
No estudio	2	20%	0,2
Primaria	2	20%	0,2
Bachillerato	5	50%	0,5
Superior	1	10%	0,1
Total	10	100%	1

**Pregunta ¿Qué tipo de actividad realiza a mediación del cuerpo de agua presente en la vereda?**

Variables	Frecuencia absoluta	Frecuencia porcentual	Frecuencia relativa
Agricultura	3	30%	0,3
Turismo	0	0	0
Vivienda	7	70%	0,7
Total	10	100%	1

**Pregunta: ¿Qué cambios físicos ha visto en los últimos años en la laguna?**

Para esta pregunta se repitieron dos respuestas entre los 10 encuestados que fueron mal olor y cambio en el color de la laguna.

<b>Variables</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia porcentual</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
Mal olor	7	70%	0,7
Cambio de color laguna	3	30%	0,3
Total	10	100%	1

**Pregunta: ¿En caso de intervención de la laguna ¿Cuál cree será el beneficio para usted y su familia?**

En esta pregunta se repitieron tres respuestas entre los 10 encuestados que fueron crecimiento de pescados, mejor aroma y oportunidad de empleo.

<b>Variables</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia porcentual</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
Crecimiento de pescados	3	30%	0,75
Mejor aroma	4	40%	1,333333333
Oportunidad de empleo	3	30%	0,3
Total	10	100%	1

**Pregunta: ¿Cuánto considera debe recibir su familia por el retiro de las plantas buchón de agua y lenteja de arroz por kilogramo seco que están dentro de su propiedad?**

<b>Precio hipotetico</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia porcentual</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
\$2.100	1	10%	0,1
\$2.900	1	10%	0,1

\$4.500	1	10%	0,1
\$5.000	6	60%	0,6
\$5.500	1	10%	0,1
Total	10	100%	1

	Media	Moda	Mediana	Varianza	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Intervalo de confianza
Valor por kilo de planta	\$4500	\$5000	\$5000	1202	1096	0,24	679

Teniendo en cuenta que no tiene un valor ecosistémico real y su presencia genera problemas de tipo ambiental el valor de los bienes en este caso las especies *E. crassipes* y *L. gibba* por kilogramo seco según los resultados de la encuesta el valor DAA debería rondar entre \$3820 y \$5180 con un intervalo de confianza de 95%.

Para calcular el DAP utilizamos como ejemplo el precio de compra de los de una especie de manzanilla por kilogramo de peso seco, a 10 personas que se dedican a vender diferentes tipos de plantas y herbolaria en general en una plaza de mercado de la ciudad de Bogotá se utiliza una planta diferente como método de comparación debido a que las plantas en este estudio no tienen un valor real en el mercado.

Precio hipotético	Frecuencia absoluta	Frecuencia porcentual	Frecuencia relativa
\$4.500	2	20%	0,2
\$5.000	1	10%	0,1
\$6.000	4	40%	0,4
\$6.500	3	30%	0,3

Total	10	100%	1
-------	----	------	---

	Media	Moda	Mediana	Varianza	Desviación estándar	Coficiente de variación	Intervalo de confianza
Valor por kilo de planta	\$5750	\$6000	\$6000	625	791	0,13	489

Teniendo en cuenta que se utilizó para el análisis una planta de uso comercial el valor del DAP debería estar entre \$5260 y \$6239 con un intervalo de confianza de 95%.

Según la Oficina Nacional de Administración Oceánica y Atmosférica (NOAA) se debe establecer un diseño conservador que establezca un límite mínimo para la Disposición a Pagar (DAP) con el fin de asegurar que la valoración refleje un valor realista y no subestime el beneficio percibido (Vásquez, 2017) que además tenga los siguientes parámetros:

- Utilizar DAP en lugar de Disposición a Aceptar (DAA): Enfocarse en la medida de cuánto está dispuesto a pagar una persona por un bien o servicio, en lugar de cuánto está dispuesto a aceptar para renunciar a dicho bien o servicio.
- Formular la pregunta de valoración como un voto en un referéndum: Presentar la pregunta en términos de preferencias individuales y elección, similar a un proceso de votación, para obtener respuestas más claras y directas.



- Describir de manera precisa el programa o política: Proporcionar una descripción detallada y clara del bien o servicio en cuestión, así como de los beneficios asociados, para que los encuestados comprendan completamente lo que se está valorando.
- Pre-evaluación de material fotográfico: Utilizar material fotográfico o visual para ayudar a los encuestados a comprender y evaluar mejor el bien o servicio, proporcionando una representación más concreta y tangible.
- Considerar la existencia de bienes sustitutos: Tener en cuenta la posibilidad de que existan otros bienes o servicios similares que puedan satisfacer las mismas necesidades o deseos, lo que podría influir en la valoración.
- Realizar un estudio posterior a un tiempo razonable de la ocurrencia de la afectación: Evaluar los cambios en la disposición a pagar con el tiempo, después de que los encuestados hayan experimentado directamente los efectos del bien o servicio en cuestión.
- Obtener promedios temporales de la valoración: Calcular promedios de las respuestas a lo largo de diferentes momentos en el tiempo, para capturar una imagen más completa y representativa de la disposición a pagar.
- Permitir la opción "no respondo": Dar la posibilidad a los encuestados de no responder a la pregunta de valoración si no se sienten cómodos o seguros haciéndolo, para garantizar la libertad de elección.
- Indagar las razones detrás de respuestas afirmativas o negativas: Obtener información adicional al solicitar a los encuestados que expliquen las razones

por las que están dispuestos o no a pagar por el bien o servicio, lo que puede proporcionar perspectivas valiosas sobre sus preferencias y motivaciones.

En el caso de ejemplo el DAP fue mayor al DAA por lo que establece que el promedio de compra por kilo seco de material biológico debe estar entre \$5260 y \$6239, acompañado de un mayor beneficio que la remoción de estas plantas y la no generación de residuos la retirarla que afecte a la población.

En la tabla 19, se desarrolla las etapas de análisis de aplicación y de mercado de un producto biotecnológico basado en los resultados y en una posible aplicación

**TABLA 19 Desarrollo de las Etapas de Análisis de Aplicación y de mercado**

ANÁLISIS	ETAPA	DESARROLLO
<b>APLICACIÓN</b>	-Análisis de factores tecnológico	<p>La utilización de la biotecnología verde es denominada por la OCDE como la utilización de las plantas, sus partes, productos secundarios para el desarrollo de conocimiento, servicios y bienes. (OCDE. 2018).</p> <p>Durante mucho tiempo se ha utilizado las plantas en el área industrial y tiene un futuro prometedor en el área biotecnológica debido a que son organismos clave en los ciclos biológicos, son una fuente de oxígeno, energía, son base fundamental en la cadena alimenticia de todos los organismos vivos, y son materia prima en la industria textil.</p> <p>Entre los principales usos en la biotecnología verde que puede ser utilizado las especies <i>E. crassipes</i> y <i>L. gibba</i> está en la creación de productos que sirvan en las áreas agrícolas para</p>

		<p>mayor productividad debido a su potencial antimicrobiano encontrado, mejora nutritiva en el enriquecimiento de minerales y proteínas, tolerancia a condiciones ambientales como sequía, suelos con erosión, y como Fito remediadores eliminando metales tóxicos</p>
	-Definición de producto	<p>La aplicación seleccionada teniendo en cuenta los resultados de la actividad antimicrobiana que se establece en este análisis es agrícola y medio ambiental, un posible uso es en la creación de un agente microbiano a partir de un complejo entre los extractos de <i>E. crassipes</i> y <i>L. gibba</i> este tendría una función de Fitoremediación evitando la contaminación de los cultivos, sería un producto que previene enfermedades sobre los cultivos.</p> <p>Se utilizaría un fitocomplejo entre las dos plantas que permita potenciar el efecto, como lo describe Avello M en 2010 un fitocomplejo puede contener la mezcla de sustancias activas que en conjunto pueden lograr un mismo fin terapéutico y estimulara su efecto (Avello, 2010), además Quesada J en 2019 estableció que si las plantas usadas dentro de un fitofármaco comparten sus metabolitos en proporciones y naturaleza potencializara su acción y su principio activo podría ser más estable.</p>
<b>MERCADO</b>	-Entendimiento del sector productivo	<p>La resistencia antimicrobiana se ha convertido en una amenaza en el tratamiento y control de plagas y contaminantes en los cultivos agrícolas, en un estudio de la Universidad Nacional de Colombia establecen que el uso indiscriminado de productos antimicrobianos en el área animal y agrícola es un</p>

		<p>factor importante en la aparición de resistencia bacteriana en humanos (Martínez 2012)</p> <p>En la actualidad la existencia de constantes contaminantes en el suelo o en el agua de riego, aparición de malezas, plagas acompañantes, y resistencia a los tratamientos dentro de los cultivos agrícolas hace que sea necesario investigar y crear productos que pueda mitigar estos efectos utilizando especies con resistencia alta a condiciones extremas.</p>
	-Reconocimiento de la competencia	<p>Phitother: Laboratorio dedicado a la fabricación, distribución de extractos naturales como materia prima en las industria farmacéutica, cosmética, alimentación. (Phitother, 2023).</p> <p>Tienda Haiku: Empresa dedicada a la fabricación de cosméticos a base de extractos naturales a partir de hojas, frutos, tallos, y semillas además de asesoramiento tecnológico para la producción de nuevos productos a base de extractos naturales. (Tienda Haiku, 2023).</p> <p>Green Andina Colombia: Compañía con experiencias en la transformación de materias primas de origen vegetal, obtención de aceites esenciales para industria cosmética, agroindustria y química básica (Green Andina, 2023).</p>
	-Análisis de clientes potenciales	Agricultores de pequeña y grande escala, y trabajadores calificados de cultivos mixtos.

En la tabla 20, se establece y ejecuta las etapas de la transferencia de conocimiento de posibles beneficios al explotar los bienes

**Tabla 20. Desarrollo y ejecución de la transferencia de conocimiento**

ETAPA	EJECUCIÓN	DESARROLLO
Preparatoria	Limitación	Quince personas que viven dentro de dos familias y utilizan para sus ejercicios de agricultura el cuerpo del agua ubicado en la finca “El Jardín” ubicada en la vereda de Chicaque, San Antonio de Tequendama.
Desarrollo	Contacto con la comunidad	Se realizó a través de encuestas donde se preguntó sobre sus necesidades y sobre cómo consideran debería ser distribuido un beneficio en caso de que se explotara comercialmente con las especies vegetales que se encuentran dentro de sus predios.
Transferencia	Síntesis y definición de propuestas	<p>El principal beneficio expuesto por la comunidad fue el retiro de estas plantas que ellos consideran como basura que afecta la laguna y a ellos mismos.</p> <p>En este apartado se debe considerar siempre la participación de las comunidades al crear empresas con la misma población donde trabajen y se vean beneficiados directamente del uso comercial del bien, las principales formas de realizarlo sería a través de una spin off entre la universidad pública el sector empresarial y la comunidad.</p> <p>Al trabajar con productos biotecnológicos son tres los grandes beneficios que se puede generar transformando un bien:</p>

		<ol style="list-style-type: none"><li>1. Generación de nuevo conocimiento en el área básica tanto de agricultura manejo de biodiversidad y creación de empresas.</li><li>2. Formación académica para la generación de nuevos científicos y profesionales que empiecen a hacer cambios directos en sus comunidades.</li><li>3. Materializar los nuevos conocimientos y el trabajo de las personas educadas en cada comunidad en la creación de negocios biotecnológicos utilizando como materia prima la biodiversidad disponible</li></ol>
--	--	--

## CAPÍTULO V DISCUSIÓN

Los potenciales usos industriales en plantas han sido determinados mediante múltiples técnicas y numerosos procedimientos, se les ha buscado aplicarlos como anticancerígenos, reductores de los perfiles glucémicos y lipídicos en el organismo, como coadyuvantes en procesos metabólicos, entre otras aplicaciones (OMS, 2012).

La búsqueda de compuestos antimicrobianos es una de las tareas más estudiadas en el siglo XXI, esto lleva a que se propongan investigaciones con diferentes recursos naturales, entre estos, las plantas dado a su riqueza en compuestos y metabolitos con capacidad inhibitoria (OMS, 2012).

Los resultados de los antibióticos y los extractos antimicrobianos pueden variar dependiendo de varios factores. Los antibióticos son medicamentos desarrollados específicamente para combatir bacterias y ciertos tipos de microorganismos, mientras que los extractos antimicrobianos son productos naturales derivados de plantas u otros organismos que tienen propiedades antimicrobianas.

En general, los antibióticos suelen ser más efectivos para tratar infecciones bacterianas específicas, ya que están diseñados para apuntar a las características únicas de las bacterias y matarlas o inhibir su crecimiento. Sin embargo, con el tiempo, algunas bacterias han desarrollado resistencia a ciertos antibióticos, lo que puede reducir su eficacia. Por otro lado, los extractos antimicrobianos pueden tener

un espectro de actividad más amplio, lo que significa que pueden ser efectivos contra una variedad de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y virus. Sin embargo, la eficacia de los extractos antimicrobianos puede ser variable y depende de la concentración, la pureza y la calidad del extracto lo que no permitiría una comparación real .

En un estudio realizado por Simoes C. et al. (2020) sobre la actividad antibacteriana in vitro de extractos brutos de especies de *Eugenia* spp. frente a cepas de mollicutes, se utilizó el DMSO como diluyente del extracto etanólico. Se observó que el DMSO puede inhibir el crecimiento de mollicutes, pero este efecto se ve potenciado por la falta de pared celular en estos micoplasmas. Por otro lado, bacterias como *Pseudomonas* spp., *E. coli* y *Staphylococcus* spp. no se ven afectadas por el DMSO debido a su morfología bacteriana, ya que poseen pared celular que les proporciona resistencia a las alteraciones causadas por este compuesto. Según las predicciones de Simoes C. et al., las cepas de Mollicutes son más sensibles a las alteraciones osmóticas y las agresiones celulares causadas por los componentes del DMSO. Por lo tanto, el uso de DMSO como diluyente del extracto en este estudio resulta seguro para las cepas utilizadas y garantiza la estabilidad de los componentes vegetales.

Los resultados obtenidos mediante difusión en disco (método de Kirby-Bauer) son los primeros ensayos realizados para valorar la actividad antimicrobiana de compuestos naturales, debido a que permiten, en el caso particular, seleccionar las



plantas con mejores resultados y posterior a esto hacer técnicas de CMI, lo anterior se soporta en lo escrito por Cáceres A. *et al.* 1998, (Caceres, 1998) quien menciona que para la realización de pruebas de susceptibilidad se deben realizar ensayos en los cuales el extracto este en total contacto con la cepa estudiada, lo que permite suponer que las pruebas de difusión en agar solo son un screening y que deben ser comprobadas por métodos de dilución en tubo o microdilución si se está buscando la actividad mínima inhibitoria, por este motivo no se buscó la CMI en el actual proyecto debido a que el interés fue buscar aquellos extractos con mejor inhibición y así proponerlos como modelos en el estudio de compuestos naturales con propiedades antimicrobianas.

Se obtuvieron resultados significativos en relación a *Eichhornia crassipes*, una planta considerada como una maleza problemática en cuerpos de agua (Villamizar, 2020). Al comparar estos resultados con los publicados por Rufchaei R *et al.*, se observa una mayor actividad antimicrobiana en este estudio. Los halos de inhibición obtenidos en la metodología de difusión en disco variaron entre 6 mm y 18 mm, y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) osciló entre 40 µg/ml y 250 µg/ml. En contraste, los resultados de Rufchaei mostraron valores de inhibición de 6 mm a 10 mm y una CMI de 126 mg/ml a 512 mg/ml en las cepas analizadas (Rufchaei, 2022). Es importante destacar que la diferencia en los resultados puede atribuirse a diversas variables, como las condiciones ambientales y el nivel de contaminación presentes en el lugar donde se recolectaron las plantas, así como el método de recolección, la caracterización taxonómica de la planta, las propiedades de la misma y la técnica empleada para extraer los fitocompuestos.

En Colombia, se ha intentado aprovechar el excedente de *Eichhornia crassipes* que se acumula en represas y lagunas, ya que interfiere con la oxigenación de estos ecosistemas (Shanab, 2020). Esto plantea una interesante alternativa para obtener extractos y sustancias con propiedades antibióticas. Sin embargo, es necesario realizar un estudio detallado para determinar las cantidades de metales pesados que la planta puede captar, ya que esto podría ser un problema al obtener extractos con fines medicinales.

En el estudio realizado por Effiong B. N et al, se utilizó la planta acuática *Lemna paucicostata* para investigar sus propiedades antifúngicas. Los extractos acuosos y etanólicos obtenidos de esta planta demostraron la presencia de compuestos con potenciales propiedades antifúngicas, como taninos y esteroides. Estas sustancias bioactivas actúan en conjunto para inhibir el crecimiento de los hongos estudiados. Este hallazgo sugiere que las plantas acuáticas, como esta especie, contienen una amplia variedad de fitocompuestos, cuya extracción depende de la técnica utilizada (Effiong, 2009).

En un estudio posterior realizado por González M et al. en 2020, se demostró la actividad de una especie de lenteja de agua contra *Pseudomonas fluorescens*. Además, se evaluó la toxicidad de los extractos en un modelo animal de pez cebra, y se determinó que su uso es seguro, ya que no se observaron cambios morfológicos o tisulares en embriones y larvas. Estos resultados respaldan la idea

de que los extractos vegetales funcionan de manera conjunta debido a los componentes presentes en ellos, generando funciones que aún pueden ser desconocidas para los investigadores, y están en línea con los hallazgos encontrados en este proyecto (González, 2020).

La presencia de compuestos como flavonoides, terpenoides (triterpenos), fenoles, quinonas, alcaloides y saponinas en las diferentes partes de las plantas indica que poseen grupos en los cuales se les ha demostrado su actividad antimicrobiana y que posiblemente estén relacionados con las capacidades de cada extracto de inhibir el crecimiento *in vitro* de cada patógeno ensayado, esto se relaciona con lo expuesto por Martínez M.M. *et al.* 2018.

Cabe resaltar que la diferencia entre las concentraciones para el ensayo de difusión en disco de cada extracto se debe al rendimiento de estos mismos con cada solvente utilizado, es decir, aun cuando todos tenían el mismo peso seco, el rendimiento para cada parte de las plantas fue diferente con cada solvente utilizado y esto se puede deber a la afinidad de cada compuesto por el solvente. Si bien hubo extractos en los cuales la actividad biológica no fue tan sobresaliente, es importante resaltar la presencia de potenciales antimicrobianos en las plantas ensayadas, debido que cada extracto fue efectivo frente al menos dos patógenos con halos de inhibición superiores a 10 mm.

Según el Banco Interamericano de Desarrollo los países que tienen una vasta biodiversidad pueden encontrarse dentro “la paradoja de la abundancia” que implica

que tener mayor cantidad de recursos biológicos su crecimiento se vea estancado o sea lento (Díaz, 2019), esto debido a falta de investigación propia, alta corrupción en los procesos y negociaciones y engaño a las comunidades por parte de empresas desarrolladas, la biodiversidad según políticas nacionales e internacionales es considerada como columna de sostén en el desarrollo, países como Colombia deben posicionarse como precursor en la investigación, desarrollo y explotación de los bienes ambientales con el fin de comercializarlo e industrializar los desarrollos biotecnológicos de investigaciones como el presente proyecto que busca integrar los resultados del área científica y un acercamiento a la comunidad directamente implicada.

Los recursos biológicos del país están considerados como material que puede ser explotado en la producción e industrialización de algún bien, el valor comercial deberá ser proporcional a su uso, a su conservación y a su impacto en el medio ambiente, en la construcción de una bioprospección correcta usando como medio de investigación y aprovechamiento de los recursos , esta mirada deber ser global con políticas ambientales que tengan en cuenta las particularidades de los entornos locales donde se hace uso del bien.

En la actualidad, la legislación colombiana ha establecido un sistema de dominio público y derechos de propiedad sobre los recursos biológicos y genéticos del país. Se han creado normas y decretos que regulan el uso comercial y proporcionan directrices para la industrialización de los bienes ambientales. Sin embargo, estas

regulaciones han sido criticadas por fomentar la lógica extractivista, tratando al medio ambiente como una fuente de materia prima para generar recursos económicos. A pesar de los esfuerzos realizados, existe una falta de coherencia entre el uso de los recursos naturales, la sostenibilidad ambiental y la conservación. La biodiversidad, al convertirse en una fuente de ingresos, ha perdido su significado como valor público sujeto a derechos, como se evidencia en la Sentencia ambiental #C519/94. Esto ha impedido una verdadera bioprospección de los bienes ambientales.

Para que la práctica de la bioprospección sea efectiva y Colombia se convierta en una potencia bioindustrial y un ejemplo en la preservación del medio ambiente, es necesario considerar el bienestar comunitario, social y ambiental en cada proyecto y política. Se debe evitar la explotación exhaustiva de los recursos y, en cambio, fomentar el intercambio de conocimiento para construir un ciclo vital que incluya el uso responsable, el desarrollo sostenible, la generación de riqueza, la reintegración y la regeneración de los recursos.

Se demostró que el comportamiento de los extractos de cada planta varía según la cepa ensayada, lo que indica que la presencia de metabolitos y fitocomplejos responsables de la actividad varía según el tipo de microorganismo. Si bien todas las plantas en general presentaron resultados favorables frente a los microorganismos patógenos ensayados es importante resaltar la actividad de *Eichhornia crassipes*, debido a la eficiencia que presentaron como antimicrobianos,

Con el actual proyecto se demostró que los compuestos presentes en las plantas pueden ayudar en el tratamiento futuro al control de la resistencia microbiana a los fármacos.

En un futuro para el estudio y bioprospección de la biodiversidad con fines biotecnológicos el uso de especies vegetales consideradas como malezas o invasoras que además son de alta propagación, abre un camino donde se beneficia de manera directa la comunidad ya que se retira esta especie de su medio ambiente al ser especies de difícil erradicación y fácil crecimiento se cuenta con una alta biomasa disponible para utilizarse en la explotación del bien, a diferencia de utilizar variedades vegetales autóctonas, ya que cuando se requiere un tamaño de muestra alto de material biológico para la producción de algún producto biotecnológico o con algún fin industrial o comercial se puede correr con el riesgo que en las comunidades solo se empiece a cultivar este tipo de material vegetal, creando monocultivos que afecta la diversidad, y cambia todo el esquema socio ambiental de la población.

## CAPÍTULO VI CONCLUSIONES

- Con el actual proyecto se demostró que los compuestos presentes en las plantas pueden ayudar en el tratamiento futuro al control de la resistencia microbiana a los fármacos.
- Esta investigación ha permitido ampliar la perspectiva sobre el uso de componentes vegetales que presentan ciertos problemas descritos por diversos autores. En este caso, hemos investigado el uso de la lenteja de agua y el buchón de agua, que puede causar impactos negativos en los humedales al aumentar su biomasa debido a sus propiedades fisiológicas.
- Es necesario realizar pruebas conjuntas entre la acción de los extractos de ambas plantas para establecer si su potencial antimicrobiano se potencializa, con el fin de que se pueda usar la biomasa disponible de ambas plantas.
- Es importante tener en cuenta que la valoración contingente ambiental tiene limitaciones y desafíos, como la dificultad de medir con precisión las preferencias de las personas, la posibilidad de sesgos en las respuestas y la falta de representatividad de la muestra. Sin embargo, cuando se aplica de manera rigurosa y se consideran estas limitaciones, puede proporcionar información valiosa para la toma de decisiones relacionadas con la gestión y conservación del medio ambiente, si bien en este estudio se realizó un acercamiento es preciso efectuar entrevistas a más población y una encuesta más estructurada.
- Teniendo en cuenta que existe un potencial biotecnológico y la disponibilidad del recurso es necesario realizar un estudio económico más específico donde

se considera la posibilidad de establecer un spin-off entre la academia y la comunidad como una de las alternativas viables, analizando el número de beneficiarios potenciales y su potencial de éxito.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abraham, E. P., Chain, E. B., Fletcher, C. M., Gardner, A. D., Heatley, N. G., Jennings, M. A., Florey, H. W. Further observations on Penicillin. *Lancet*. 1941. Vol. 2. Pp. 177- 189.
2. Acosta, A. (2012). Ecoportal. Recuperado el 29 de 07 de 2018, de Extractivismo y neoextractivismo: dos caras de la misma maldición: [https://www.ecoportal.net/temas-especiales/mineria/extractivismo\\_y\\_neoextractivismo\\_dos\\_caras\\_de\\_la\\_misma\\_maldicion/](https://www.ecoportal.net/temas-especiales/mineria/extractivismo_y_neoextractivismo_dos_caras_de_la_misma_maldicion/)
3. Acosta, A. (2015). Los coletazos del colonialismo senil. En A. Acosta & E. Martínez (Comp.), *BIOPIRATERÍA La biodiversidad y los conocimientos ancestrales en la mira del capital*. Quito (pp. 23-25).
4. Akerele O. Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. *Medicina tradicional. Foro Mundial de la Salud*. 1993 vol. 14. Pp. 390-395.
5. Akhtar M.S., Imran M.B., Nadeem M.A., Shahid A. 2012. Antimicrobial Peptides as Infection Imaging Agents: Better Than Radiolabeled Antibiotics. *International Journal of Peptides*. Vol. 2012. Pp. 1-19.
6. Almahy, H. A. (2015). Antibacterial activity of methanol extracts of the leaves of *Lemna minor* against eight different bacterial species. *International Journal of Pharmaceutics* 5, 46-50.
7. Alowe S, Browne M, Boudjelas S. "100 of the world"s worst invasive alien species." A selection from 2 (2004)

8. Arenas A., Merú M. y Torres G. Evaluación de la planta *Lemna minor* como biorremediadora de aguas contaminadas con mercurio. 2011. avances en ciencias e ingeniería. Vol. 2(3), pp. 1-11.
9. Aricapa Barrera Diana Paola. Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos. 2009. Pontificia Universidad Javeriana. 147 pag.
10. Arroyave M .(2004). La Lenteja de agua (*Lemna minor L.*): Una planta acuática promisoría.. Revista EIA. Vol N. 1. Pág. 33-38.
11. Avello M , Cisternas I. (2010). Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Revista médica de Chile*, 138(10), 1288-1293
12. Bado I, Cordeiro N, García V, Robino V, Seija L, Vignoli R. Principales grupos de antibióticos. Temas de Bacteriología y Virología Médica. Montevideo, Oficina del Libro FEFMUR, 2008, pág. 631- 647.
13. Barzev, r. (2001). estrategia nacional de Biodiversidad de nicaragua. valoración económica de los bienes y servicios ambientales de la biodiversidad y sus aportes a la economía nacional.
14. Beattie A.J., Hay M., Magnusson B., Nys R., Smeathers J. Ecology and bioprospecting. 2011. NIH Public Acces. PMC. Vol. 36. Pp. 341-356.
15. Belkum A.V., Durand G., Peyret M., Chatallier S., Zambardi G., Schrenzei J., Shortridge D., Engelhardt A., Dunne W.M. Rapid Clinical Bacteriology and Its Future Impact. *Ann Lab Med*. 2013. Vol. 33. Pp. 14-27.
16. Beltrán Barrera, Y. (2013). Lo socioambiental de la bioprospección en Colombia: Un análisis en torno a sus conflictos, sus determinantes, sus tendencias y la ética. C. Toro Pérez, L. Melgarejo, M. Uribe Arbeláez, D.

- Rodríguez Goyes, V. Hincapié Rojas, M. Rodríguez Figueredo, y otros, Determinantes científicas, económicas y socio-ambientales de la bioprospección en Colombia (2003-2012) (pág. 174). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
17. Benítez R, Calero V, Peña E., Martín J. Evaluación de la Cinética de la Acumulación de Cromo en el Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*). 2011. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Vol.9. Pp. 63-73.
  18. Benítez-Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Gallo-Corredor, J. A., Pérez Pacheco, N. O., Álvarez Sandoval, J. H., & Giraldo Aristizabal, C. I. (2020). Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad De Ciencias Básicas*, 15(1), 31–40
  19. Bennet P.M. 2008. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology*. Vol. 153. Pp. 347-357.
  20. Berdances J. Principios activos y preparaciones farmacéuticas de las plantas medicinales. *Natura Medicatrix*. 1994 p.p. 37-38.
  21. Bermejo R. La gran transición hacia la sostenibilidad: principios y estrategias de la economía sostenible. Madrid, España: Catarata Editorial. 2005
  22. Bisset N. (1994). Herbal drug and phytopharmaceuticals. A handbook for practice on a scientist basis. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, U. K.
  23. Brango-Vanegas, J.F. Búsqueda de compuestos Inhibidores de Quorum Sensing (IQS) a partir de extractos de origen natural. Primera Fase. Trabajo de grado presentado como requisito para optar por el título de Magister en

- Ciencias-Química. 2011. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Química. 173 pag.
24. Bravo V., E. (1997). LA BIOSPROSPECCION EN EL ECUADOR. In A. Varea, L. Suárez, G. Chávez, M. Cordero, N. Alvarez, F. Espinoza Fuentes, et al., Biodiversidad, Bioprospeccion y Bioseguridad (pp. 131-141). Quito: ABYA-YALA.
25. Bres P., Crespo D., Rizzo P. y Rossa R. Capacidad de las macrofitas *Lemna minor* y *Eichhornia crassipes* para eliminar el níquel. 2012. RIA. Vol. 38 /N.º 2.
26. Brush, S. (1999). Bioprospecting the Public Domain. *Cultural Anthropology*, 14(4), 535- 555.
27. Cabrera Y, Fadragas A. y Guerrero. 2005. L. Antibióticos naturales. Mito o realidad. *Revista Cubana Med. Gen. Integr.* Vol: 21. Pág. 3-4.
28. Cáceres A. 1998. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 natives plants. *J. Ethnopharmacol.* Pp95.
29. Caovilla et al, Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de algumas espécies de plantas aquáticas da região oeste do Paraná. *Fitoquímica: potencialidades biológicas dos biomas brasileiros.* Vol1. 2020
30. Canales G, Angel; (2010). Evaluación de la biomasa y manejo de *Lemna gibba* (lenteja de agua) en la bahía interior del lago titicaca, puno. *Ecología aplicada*, julio-diciembre, 91-99.
31. Carrizosa J. 2002. Análisis Comparativo de Modelos Internacionales de Bioprospección: Implicaciones para la Conservación de la Biodiversidad y la

- Distribución Equitativa de Beneficios. Primer Taller Nacional sobre bioprospección. Universidad Nacional, Colombia.
32. Carrizosa J. 2005. Desequilibrios territoriales y sostenibilidad local: conceptos, metodologías y realidades. Bogotá: Editorial de la Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Estudios ambientales (IDEA).
  33. Cavalieri S.J., Rankin I.D., Harbeck R.J., Sautter R.L., McCarter Y.S., Sharp S.E., Ortez J.H., Spiegel C.A. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. 2005.
  34. Celis A, Mendoza C, Pachon M, Cardona J, Delgado W, Cuca I. extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia piperácea. Una revisión. *Agronomía Colombiana*. 2008; 26(1) pág. 97-106.
  35. Centre for Ecology and Hydrology. (Sitio de internet). (Citado el 29 de Marzo de 202). Disponible en: [http://www.ceh.ac.uk/sci\\_programmes/documents/duckweeds.pdf](http://www.ceh.ac.uk/sci_programmes/documents/duckweeds.pdf)
  36. Centre de Patents. Universitat de Barcerlona. Patentabilidad de los extractos vegetales. 2013. [en línea] Fecha de acceso 8 de Marzode 2017. Disponible en: (<http://www.ub.edu/centrepatents/ca/>).
  37. Cifuentes Y. 2005. Perfil Microbiológico de Aislamientos en Unidades Neonatales en un Hospital de Tercer Nivel de Bogotá, Colombia. *Rev. Salud Pública*. Vol. 7. Pp. 191-200.
  38. CLSI, 2000 National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Document M7-A5. NCCLS, Wayne, PA, 2000.

39. CLSI. 2014 *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth. Information Supplement. Enero de 2014. 230 p.
40. Convención Ramsar (1997): Valoración Económica de los Humedales. Guía para decisores y planificadores. Oficina de la Convención RAMSAR ([http://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/pdf/lib/lib\\_valuation\\_s.pdf](http://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/pdf/lib/lib_valuation_s.pdf))
41. Cordiés-Jackson L, Machado-Reyes LA, Hamilton Cordiés ML. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Med* 1998;8(1):13-27.
42. Córdoba Z., Mendiola R., Cerrilla O., Jiménez E., Sánchez M., Herrera H., et al. Utilización de la Lenteja agua (*Lemnaceae*) en la producción de tilapia (*Oreochromis* spp.). 2010. *Rev. Arch. Zootec.* V. 59 (R): 133-155.
43. Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca CAR. 2020. Plan de Prevención, Manejo y Control del buchón de agua (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) para la jurisdicción de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca CAR. 47p.
44. De los Ríos C., Hidalgo D., Contreras Q., Crescente O, Caserta A. 1999. Phytochemical evaluation and antimicrobial activity of *Espeletia schultzii* (Asteraceae) inflorescences. *CIENCIA*. Vol. 7. Pp. 72-77.
45. Dhanji H., Doumith M., Rooney P.J., O'Leary C., Loughrey A.C., Hope R., Woodford N., Livermore D.M. 2011. Molecular epidemiology of fluoroquinolone-resistant ST131 *Escherichia coli* producing CTX-M extended-

- spectrum  $\beta$ -lactamases in nursing homes in Belfast, UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vol. 66. Pp. 297-303.
46. Díaz P (2019). Política y Legislación Sobre La Bioprospección en Colombia. Tesis de Maestría. Repositorio Universidad Nacional de Colombia.
47. Domagk, G, Ein Beitrag zur Chemoterapie der bakteriellen infektionen. *Disch. Med. Wschr.* 1935. Vol. 61. Pp. 250-253.
48. Duarte Torres, Ó. (Agosto de 2011). La bioprospección en Colombia. *Expediio*, 17-25.
49. Duarte O, Velho L. La bioprospección como mecanismo de cooperación para la construcción de capacidades endógenas en ciencia y tecnología y análisis de las capacidades de Colombia para adelantar procesos de Bioprospección. VI Jornadas Latinoamericanas de Estudios Sociales de la Ciencia y la Tecnología –ESOCITE.2006. 1-26.
50. Duman F., Aksoy A., Ozturk F. y Ceylan A. Exogenous salicylate application affects the lead and copper accumulation characteristics of *Lemna gibba L.* *Z. Naturforsch C.* 2010; 65: 11-12.
51. Effiong BN., Sanni A. Antifungal Properties and Phytochemical Screening of Crude Extract of *Lemna pauciscostata* (Helgelm) Against Fish Feed Spoilage Fungi. 2009. *Life Science Journal*. Vol 6(3): 19-22.
52. Español Niño, W. (2017). Bioprospección y Conocimiento Tradicional en Colombia. Bogotá, Colombia.
53. Eyzaguirre, P., & Woods-Páez, A. (2002). Biodiversity and Traditional Knowledge: Equitable Partnerships in Practice. *Earthscan Publications*(143), 66-67.

54. Farfán L., Benítez S y Hoyos L. Sensibilidad de bacterias procedentes de pasifloras a antibióticos y productos cúpricos. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 2014; 8 (1): 20-33.
55. Farnsworth N.R. Biological and Phytochemical screenig of plants. *J. Pharm. Sci.* 1966. Vol. 55. Pp. 225-269.
56. Fernández A, Colombo ML, Curto LM, Gómez GE, Delfino JM, Guzmán F, Bakás L, Malbrán I and Vairo-Cavalli SE (2021) Peptides Derived From the  $\alpha$ -Core and  $\gamma$ -Core Regions of a Putative *Silybum marianum* Flower Defensin Show Antifungal Activity Against *Fusarium graminearum*. *Front. Microbiol.* 12:632008
57. Fernández F., Torres M. *Inflamación y Plantas medicinales*. Organización Mundial de la Salud. 2013. [en línea] Fecha de acceso 8 de marzo de 2017. Disponible en: [www.paho.org/cub/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=896&itemid=226](http://www.paho.org/cub/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=896&itemid=226).
58. Fleming, A. On antibacterial action of cultures of penicillin with special reference to their use in isolation of *B. influenzae*. *Brit. J. exp. Pathol.* 1920. Vol. 10. Pp. 226-236.
59. Florey H.W. *Antibiotics*. Oxford Medical Publications. 1949. Vol. 1. Pp. 580-581.
60. Forsberg K., Patel S., Gibson M., Lauber C., Knight R., Fierer N & Dantas G. Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats. *Letter. Nature.* 2014; 509: 612-630.



61. FREEMAN III, A.M. (2003). The measurement of environmental and resource values. Theory and methods. Resources for the Future. Washington, DC.
62. Fuentes C, Romero C. Una Visión del problema de las malezas en Colombia. *Agronomía Colombiana*. 1991; 8: 364-378.
63. Global Invasive Species Database (2017) Species profile: *Eichhornia crassipes*. Downloaded from <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=70> on 24-04-2017.
64. Gómez H. Análisis de la mitigación del impacto ambiental en el lago parque florida, por fitorremediación usando buchón de agua. 2012. Universidad militar nueva granada.
65. Gómez L, Moran E, Méndez J. Bioprospección y Sustentabilidad Participativa: una mirada desde el Derecho de la Biodiversidad. *Ciencia Juridica*. Universidad de Guanajato, 2014. P. 7
66. Gómez S. Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. *Infect*. 2010. vol.14 suppl.2 Bogotá Dec.
67. González-Rentería, M., del Carmen Monroy-Dosta, M., Guzmán-García, X., Hernández-Calderas, I., & Ramos-Lopez, y. M. A. (2020). Antibacterial activity of *Lemna minor* extracts against, *Pseudomonas fluorescens* and safety evaluation in a zebrafish model. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3465–3473.
68. Grau S. Main variables in the economic cost of treating an infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35:S41–5.
69. GREBO, Boletín Número 11, Bogotá 2018, ISSN 2027-0860.
70. Green Andina. 2023 Disponible: <https://greenandinacolombia.com/>

71. Gross PA. The Potential for Clinical Guidelines to Impact Appropriate Antimicrobial Agent Use. *Infectious Disease Clinics of North America*. 1997 Vol. 11. Pp. 803-812.
72. Guarín Calle, J. C., & Vitoncó Orozco, Y. (2022). La huella ecológica, indicador de sostenibilidad ambiental y social. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(1), 4156-4175.
73. Gülçin I., Kireççi E., Akkemik E., Topal F., Hisar O. Antioxidant, antibacterial, and anticandidal activities of an aquatic plant: duckweed (*Lemna minor* L. *Lemnaceae*). 2010. *Turk. J. Biol.* Vol. 34. Pp: 175-188.
74. Guerrero P. Manual de prácticas de operaciones unitarias. Universidad de Sonora. Escuela de ciencias químicas, 1987, Pp 220-224
75. Hollenbeck B., Rice L. 2012. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in *Enterococcus*. *Virulence*. Vol. 3. Pp. 421-433.
76. Hu, K., Kobayashi, H., Dong, A., Jing, Y., Iwasaki, S., Yao, X. Antineoplastic Agents III: Steroidal glycosides from *Solanum nigrum*. 1999 *Planta medic.* Vol. 65. Pág. 35-38.
77. Instituto Colombiano Agropecuario. (ICA) 2011. Manejo fitosanitario del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* subsp. andigena y *S. phureja*) - Medidas para la temporada invernal. Bogota. Código 00093111 Publicado 2011
78. Jechalke S, Heuer H, Siemens J, Amelung W & Small K. Fate and effects of veterinary antibiotics in soil *Trends in Microbiology*. 2014; 22 (9).

79. Jorgensen J. Laboratory Issues in the Detection and Reporting of Antimicrobial Resistance. *Infectious Disease Clinics of North America*. 1997; 11: 758-802.
80. Katzung Bertram G. *Farmacología Básica y Clínica. Manual Moderno*. 9ª edición, Mexico, 2005.
81. Köser C, Ellington M, Cartwright E, Gillespie S, Brown N, Farrington M, *et al.* Peacock S. Routine Use of Microbial Whole Genome Sequencing in Diagnostic and Public Health Microbiology. *PLOS Pathogens*. 2012; 8: 1-9.
82. Lagoudakis C, Savolainenb V, Williamsd E, Steven F, Wagstaffe J, Baralf S, Watsong M, Pendryg C, Hawkinsa J. Phylogenies reveal predictive power of traditional medicine in bioprospecting. *PNAS*. 2012; 109: 15835–15840.
83. Lee K.H., Ibuka T., Wu R.Y. Beta unsubstituted cyclopentenona a structural requirement for antimicrobial and cytotoxic activities. *Chem. Pharm. Bull.* 1974. Vol. 1974. Pp. 2206.
84. Leite L., Mahú M., Costa A., Mendes A., Lopes E., Mendonca E., Niza J., De Matos A & Da Costa P. Prevalence of antimicrobial resistance in enteric *Escherichia coli* from domestic pets and assessment of associated risk markers using a generalized linear mixed model. *Preventive Veterinary Medicine*. 2014; 117: 28–39.
85. Livemore D. 2012. Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram-Negative Pathogens. *The Korean Journal of Internal Medicine*. Vol. 27. Pp. 128-142.
86. Liu W., Fang L., Li M., Li S., Gou S., Luo S., Luo R., Feng Z., Li B., Zhou Z., Shao G., Chen H., Xiao S. 2012. Comparative Genomics of *Mycoplasma*:

Analysis of Conserved Essential Genes and Diversity of the Pan-Genome.

PLoS one. Vol. 74. Pp. 1-9.

87. López-Medina et al: Biotecnia / XXIV (2): 36-44 (2022)
88. Machado J, González D. Dispensación de antibióticos de uso ambulatorio en una población colombiana. Rev. Salud pública. 2009 Vol. 11 (5) pág.734-744.
89. Madubunyi, I. 1995. Antimicrobial activities of the constituents of *Garcinia kola* seeds. Intern. J. Pharm., 33 (3): 232-237.
90. Malbrán C.G. Manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos. INEI. 2001. 66 p.
91. Malbrán c. Metodo De Determinacion De Sensibilidad Antimicrobiana Por Dilucion [Internet]. 32nd ed. Clinical and laboratory standards institute; 2012
92. DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf
93. Manzini E, Bigues J. Ecología y democracia. De la injusticia ecológica a la democracia ambiental. Barcelona, España: Icaria y Madera Editores. 2000.
94. Martínez A. Aceites esenciales. Universidad de Antioquia. Facultad Química Farmacéutica. 2001.
95. Martinez Rocha A. Uso de antimicrobianos en la avicultura: sus implicaciones en la salud pública [Internet]. Bdigital.unal.edu.co. 2012
96. Martinez M.M., Ocampo D.M., Galvis G.H., Valencia A. 2011. Actividad antibacteriana y citotoxicidad *in vivo* de extractos etanolicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). Revista Cubana de Plantas Medicinales. Vol. 16. Pp. 313-323.

97. Melgarejo, L. M. (2003, Julio). Bioprospection: National Plan and Up to Date Situation in Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 8(2), 73-86.
98. McMurry John. *Química Orgánica*. 7ª edición. 1347 pag. 2008.
99. Mitscher L.A., Wu W., Doskutch R.W., Beal J.L. Antimicrobial agents from higher plantas II. Alkaloids from *Thalictrum rugosum*. *Lloydia*. 1972. Vol. 35. Pp. 196-176.
100. Mooney, P. (2002). El Siglo ETC Erosión, Transformación Tecnológica y Concentración Corporativa en el Siglo 21. Montevideo: Grupo ETC, Dag Hammarskjöld Foundation y Editorial Nordan-Comunidad.
101. Moreno S., Rosas A., Taddei A., Pékear S., Herrera J. 2012. Evaluación de la actividad antimicrobiana e identificación de Bencenoacetamida y N Isopropil-2- (Quinolin-2-il) acetamida en el extracto hexánico de *Streptomyces* sp. USB 0708. *Avances en Ciencias e Ingeniería*. ISSN-e 0718-8706. Vol. 3. Pp. 33-39.
102. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Document M7-A5. NCCLS, Wayne, PA, 2000.
103. Nuñez L.P. Estudio fitoquímico del extracto alcaloidal de la especie nativa *Berberis tabiensis* (Lac) Berberidaceae. 2010. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Trabajo presentado para optar por el título de Magister en Ciencias-Química. Pag 97.
104. Ocares M. Acción antimicrobiana de extractos crudos de especies de plantas nativas sobre *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. 2012. Tesis de grado. Universidad Austral de Chile.

105. Organización Mundial de la Salud. OMS. Estrategia de la OMS para la medicina tradicional 2012-2023. 2013. 75 pág.
106. Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Centro de recursos de información de la OMS. Ginebra, Suiza. 2001. 104 pag.
107. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2015. Antimicrobial Resistance Division, National Action Plans and Monitoring and Evaluation. ISBN: 9789243509761. Ginebras, Suiza 45 pag.
108. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2020 Resistencia a los antibióticos. Centro de recursos de información de la OMS. Ginebra, Suiza 2020 10 pag.
109. Palomino, O. (2001). Métodos analíticos para la identificación de Plantas Medicinales. Apuntes del Curso de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI).
110. Parekh J., Karathia N., Chanda S. Evaluation of antibacterial activity and phytochemical analysis of *Bauhinia variegata* L. bark. African Journal of Biochemical Research. 2006; 9:53-56.
111. Paz Martí C. La bioprospección de los recursos genéticos y su explotación. Revista electrónica Del Instituto Español de Oceanografía. 2006. Vol. 3. Pp. 15-18.
112. Perea S. Resistencia de *Candida albicans* a los azoles. Revista Española de Quimioterapia. Septiembre 2000. Vol. 13.

113. Pérez C. y Saavedra E. Avances en el manejo integrado de la bacteria *Burkholderia glumae* en el cultivo de arroz en el caribe Colombiano. Rev. Colombiana Cienc. Anim. 2011. 3 (1): 111-124.
114. Peters B.M., Shirliff M.E., Jabra-Rizk M.A. 2010. Antimicrobial Peptides: Primeval Molecules or Future Drugs? PLoS PATHOGENS. Vol. 6. Pp. 1-4.
115. Pitts O.M., Thompson H.S., Hoch J.H. Antibacterial activity of *Solanum carolinense* L. J. Pharm. Sci. 1969. Vol. 58. Pp. 379-389.
116. Plaza G, Quintana D, Aponte L, Chaves B. Characterization of the weed community of a rose greenhouse production system in the Bogota plateau. Agronomía Colombiana. 2009; 27: 385-394.
117. Phitother, empresa venta de extractos naturales 2023 disponible <https://phitother.com/>
118. Quesada-Espinoza, Javier, & Murillo-Masis, Renato. (2019). Control de calidad de fitofármacos con la utilización de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y la aplicación del análisis de componentes principales (PCA). *Revista Tecnología en Marcha*, 32(4), 81-94.
119. Ramírez Ana. La Lenteja de Agua – *Lemna* en el Lago de Maracaibo – Una primera aproximación. 2004. PlaniGestión, C.A.
120. Roca W. Tendencias en el desarrollo de capacidades biotecnológicas para el aprovechamiento de la biodiversidad en los países de la Comunidad Andina. Informe preparado para la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL) y la Corporación Andina de Fomento (CAF). 2004. Pp. 66-98.

121. Rodríguez, S. (2003). Contratos de bioprospección: entre las promesas y la realidad. Dialnet, 135-147.
122. Rodríguez C., Towers G.H.N., Mitchel J.C. Biological activities of sesquiterpenolactones. *Phytochen.* 1976. Vol. 15. Pp. 1573-1580.
123. Rojas N, Avellaneda S, Cuellar A. Plantas utilizadas en la medicina tradicional en Tierra Caliente, Guerrero, México para el tratamiento de enfermedades infecciosas. *Rev. Colombiana cienc Anim.* 2010; 2: 124-136.
124. Romero E. Desarrollo sostenible hacia la sostenibilidad ambiental. Primera Edición. Produmedios. Bogotá. 2012.
125. Romero M., Cabrera E. Ortiz N. 2008. Informe sobre el estado de la biodiversidad en Colombia 2006-2007. Instituto de Investigación Alexander von Humboldt. Bogotá, D.C. Colombia. Pp. 186.
126. Rufchaei R , Abbas-Mohammadi M, Mirzajani A , Nedaei S.2022.. Evaluation of the Chemical Compounds and Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Leaves of *Eichhornia crassipes* (Water Hyacinth). *Jundishapur J Nat Pharm Prod.*;17(1):e101436.
127. Setzer, M., Moriarity, D., Lawton, R., Setzer, W., Gentry, G., & Haber, W. (2003, Septiembre ). Phytomedicinal potential of tropical cloudforest plants from Monteverde, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 51, 647-673.
128. Shanab S., Shalaby E., Lightfoot D., El-Shemy H. Allelopathic Effects of Water Hyacinth [*Eichhornia crassipes*]. 2010. *Plos One*. Vol. 5.
129. Simoes C., Mendes S., Guedes A., Alberton M. y Mendes C. Actividad antibacteriana in vitro de extractos brutos d especies de *Eugenia* sp frente a cepas Mollicutes. 2010. *Revista Pan-Amaz Saude*. Vol 1(2). Pp: 33-39.



130. Stockel. M., Gordon R., Duglas J.R., Merck C.O. Enfermedades infecciosas. JAMA. 14 de julio de 1993.
131. Tamma P.D., Putcha N., Suh Y.D., Van Arendonk K., Rinke M.L. 2011. Does prolonged  $\beta$ -lactam infusions improve clinical outcomes compared to intermittent infusions? A meta-analysis and systematic review of randomized, controlled trails. BMC Infect Dis. Vol. 11. Pp. 181-194.
132. Thamaraiselvi P, Lalitha P, Jayanthi P. Preliminary studies on phytochemicals and antimicrobial activity of solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. 2012. Asian Journal of Plant Science and Research. Vol. 2. Pp. 115-122.
133. Tienda Haiku. 2023 disponible <https://tiendahaiku.com/nosotros/>
134. Vadlapudi V. *In Vitro* Antimicrobial Activity of Methanolic Extract of Selected Indian Medicinal Plants. 2010. Pharmacophore. Vol.3. Pp 214-219.
135. Vallejo Trujillo, F., Nemogá Soto, G., & Rojas Díaz, D. (2009). Guía práctica para el acceso a los recursos biológicos, los recursos genéticos y/o sus productos derivados, y el componente intangible (Primera ed.). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
136. Vásquez F. (2017). Metodologías para la valoración económica del medio ambiente. Políticas Públicas frente al cambio climático. Curso teórico practico. EUROCLIMA-CEPAL
137. Vega L. Hacia la sostenibilidad ambiental del desarrollo. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia- Idea. Ecoe Editores. 2005.
138. Villalobos A.P., Díaz M.H., Barrero L.I., Rivera S.M., Henríquez D.E., Villegas M.V., Robledo C.G., Leal A.L. 2011. Tendencias de los fenotipos de

resistencia bacteriana en hospitales públicos y privados de alta complejidad de Colombia.

139. Villamagna A. M., Murphy B. R. Ecological and socio-economic impacts of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) review. 2010. *Freshwater Biology*. Vol. 55. Pp. 282–298.
140. Waksman S, Woodruff B, "Streptohricin, A New Selective Bacteriostatic and Bactericidal Agent, Particularly Effective Against Gram-Negative Bacteria," *Proceedings of the Society for Experimental and Biological Medicine* 49 (1942): 207-210.
141. Wendlandt S, Shen J, Kadlec C, Wang Y, Li B, Zhang LW, *et al* . Multidrug resistance genes in Staphylococci from animals that confer resistance to critically and highly important antimicrobial agents in human medicine. *Trends in Microbiology*. 2015; 23 (1).
142. Yong AL., Ooh KF., Ong HC., Chai T & Wong FC. Investigation of antibacterial mechanism and identification of bacterial protein targets mediated by antibacterial medicinal plant extracts *Food Chemistry*. 2014;103 (11).
143. Zayed, A., Gowthaman, S. and Terry, N. (1998), Phytoaccumulation of Trace Elements by Wetland Plants: I. Duckweed. *Journal of Environmental Quality*, 27: 715-721.
144. Zhang Y., Hu Y., Yang B., Ma F., Lu P., Li L., Wan C., Rayner S. y Chen S. Duckweed (*Lemna minor*) as a Model Plant System for the Study of Human Microbial Pathogenesis. 2010. *PLoS One*. Vol: 5(10).

## ANEXOS

### Anexo 1. Carta de donación de *Eichhornia crassipes*

Bogotá D.C.


14 de Junio de 2014.

A quien interese.

Por medio de la presente yo, José Gabriel Zarate Ramírez, identificado con cedula de ciudadanía No. 17.073.558, certifico que el día 3 de septiembre del año 2013, realicé la donación de cinco kilogramos (5 kg) de buchón al proyecto de investigación denominado: **"ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD DE METABOLITOS NATURALES COMO ANTIMICROBIANOS"** desarrollado por el grupo de Investigación CEPARIUM de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

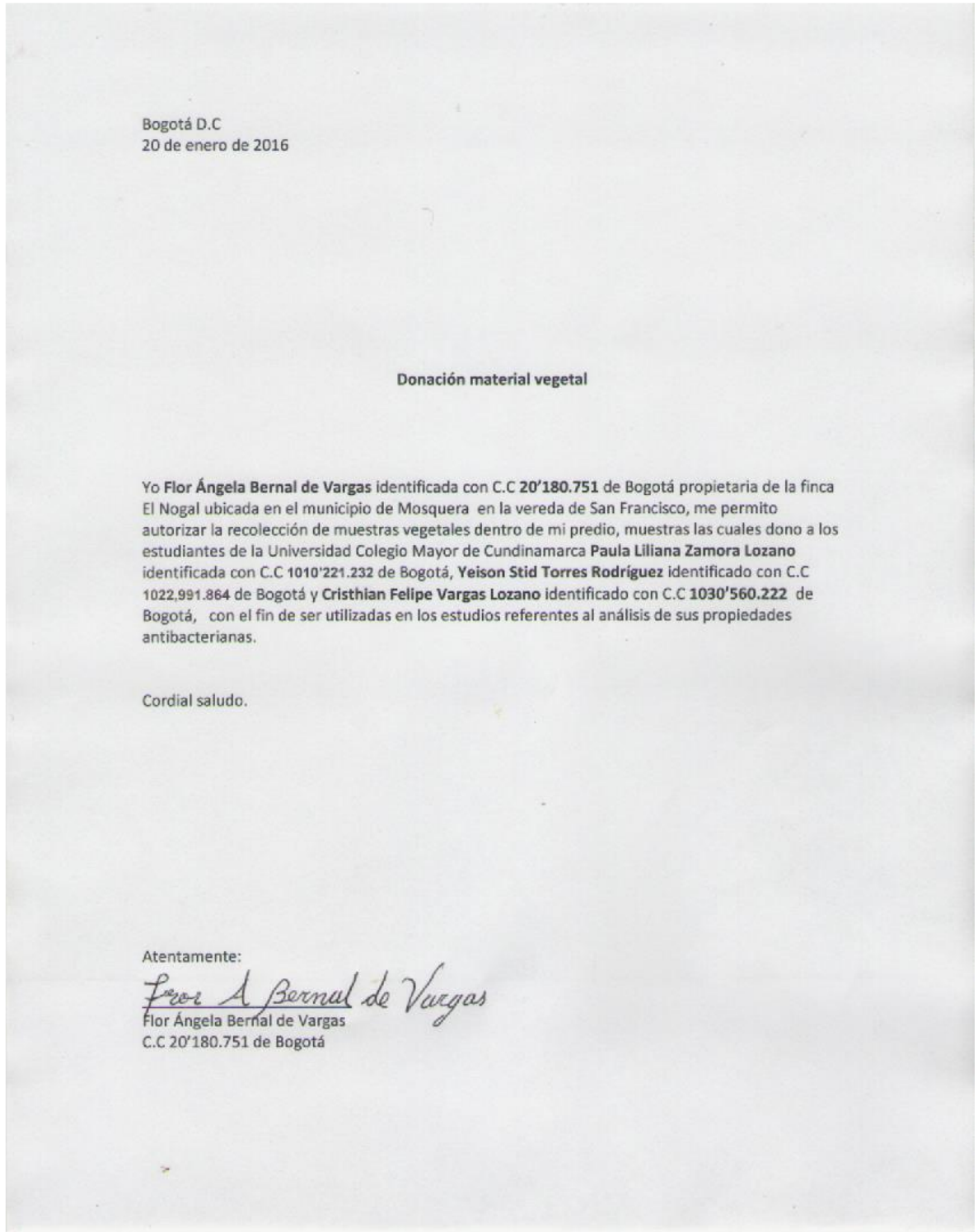
El buchón fue tomado de mi finca "El Jardín" ubicada en la vereda de Chicaque, Cundinamarca.

Cordialmente,



José Gabriel Zarate Ramírez  
C.C. 17.073.558

## Anexo 2. Carta de donación de *Lemna gibba*



## Anexo 3. Certificado de identificación de *Eichhornia crassipes*



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

SEDE BOGOTÁ

FACULTAD DE CIENCIAS

INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES  
HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)

COL - 328

Bogotá D.C., 24 de septiembre de 2014

Señores

Cristian Nicolas Rodríguez & Andrés Gabriel Zarate

Ciudad

Asunto: **Identificación Taxonómica muestras**

Cordial Saludo,

Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de la(s) muestra(s) botánica(s):

Nombre	FAMILIA	No. COL	Colector	No de Colecta	Determinó
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	PONTEDERIACEAE	578333	Cristian Rodríguez & Andrés Zarate	2	C. Parra-O./2014
<i>Sambucus nigra</i> L.	ADOXACEAE	-----	Cristian Rodríguez & Andrés Zarate	3	C. Parra-O./2014
<i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg.	ASTERACEAE	-----	Cristian Rodríguez & Andrés Zarate	4	C. Parra-O./2014
<i>Bauhinia</i> sp.	FABACEAE	-----	Cristian Rodríguez & Andrés Zarate	1	C. Parra-O./2014

Esta certificación no es válida para trámites ante el INVIMA o el ICA. El (Los) pliego(s) testigo(s) quedará(n) como muestra permanente en nuestro herbario.

Cordialmente,

**Prof. CARLOS ALBERTO PARRA**  
Administrador General  
Herbario Nacional Colombiano -COL  
E-mail: herbacol\_fcbog@unal.edu.co

Copia Archivo COL  
Florencia Fábila

Carrera 30 No. 45-03, INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES,  
"HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)" Edificio 425- 2º piso, Oficina 222  
Conmutador: (57-1) 316 5000 Ext.11538 – 11518 Fax: 11538  
Correo electrónico: herbacol\_fcbog@unal.edu.co  
Bogotá, Colombia, Sur América

## Anexo 4. Certificado de identificación de *Lemna gibba*



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
SEDE BOGOTÁ  
FACULTAD DE CIENCIAS  
INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES  
HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)

COL - 18  
Bogotá D.C., 08 de febrero de 2016

Señores  
Paula Liliana Zamora Lozano  
Ciudad

Asunto: Identificación Taxonómica.

Cordial Saludo,

Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de la(s) muestra(s) botánica(s):

cs Nombre: *Lemna gibba* L.  
cs Familia: ARACEAE  
No. COL 587615  
Colector Paula Liliana Zamora Lozano et al.  
No. Colecta 1  
Determinó O. Rivera-Díaz/2016

Esta certificación no es válida para trámites ante el INVIMA o el ICA. El (Los) pliego(s) testigo(s) quedará(n) como muestra permanente en nuestro herbario.

Prof. CARLOS ALBERTO PARRA  
Administrador General  
Herbario Nacional Colombiano -COL  
Universidad Nacional de Colombia  
E-mail: herbacol\_fcbog@unal.edu.co

Copia: Archivo COL  
/Herbario

Carrera 30 No. 45-00, INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES,  
"HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)" Edificio 425- 2º piso, Oficina 222  
Comutador: (57-1) 316 5000 Ext.11538 - 11518 Fax: 11538  
Correo electrónico: herbacol\_fcbog@unal.edu.co  
Bogotá, Colombia, Sur América