

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HEXÁNICO Y FRACCIONES DE *ACHYROCLINE SATUREIODES* FRENTE AL PATÓGENO *PAENIBACILLUS LARVAE*

DISCIPLINA: Microbiología, enfermedades infecciosas y parasitarias

PIMENTEL BETANCURT, D.; PALLETTI ROVEY, M. F.; CASSINA, C.; BEOLETTO, V.; OLIVA, Ma. De las M.; MARIOLI, J. M.

INTRODUCCIÓN

Loque americana (LA), es la enfermedad más destructiva y extendida de las abejas de cría. El agente etiológico es la bacteria Gram positiva *Paenibacillus larvae*, formadora de esporas, las cuales son extremadamente resistentes al calor y a los agentes químicos y ellas solas son capaces de inducir la enfermedad (Genersch, 2010). Para su control, en un principio se usaron antibióticos que actuaban sobre la forma bacteriana pero no, sobre la espora infecciosa, enmascarando la enfermedad al disminuir los síntomas, sin llegar a erradicarla completamente, además generando resistencia bacteriana y residuos de estos químicos en la miel (Evans, 2003). Por lo tanto, son necesarias nuevas estrategias para el control de LA que sean más benéficas con el medio ambiente y eficaces en el control de la enfermedad. En la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos, encontramos a la especie vegetal *Achyrocline satureioides* (Lam.) conocida como marcela de campo, ampliamente utilizada en América del sur, debido a sus propiedades farmacológicas como antioxidante, antiinflamatoria y antibacteriana (Retta, 2014). El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antibacteriana de las distintas fracciones obtenidas del extracto hexánico (EH) de *A. satureioides* frente a *P. larvae*, determinando la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para obtener las fracciones del EH y lograr una mejor separación de los compuestos presentes en este, se realizó un análisis bioguiado mediante cromatografía de capa fina (TLC) donde se evaluaron varias mezclas de fase móvil hasta observar bandas separadas, luego se procedió a realizar un fraccionamiento del EH mediante cromatografía flash en columna siguiendo la metodología de Still et al. (1978), con el fin de obtener una cantidad considerable de cada fracción y determinar posteriormente su actividad antibacteriana, determinando la CIM (Mann and Markham. 1998) y CBM (Finogold and Baron. 1992).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron 12 fracciones del EH, además del EH; se encontró que tanto el EH como las fracciones fueron capaces de inhibir el crecimiento de *P. larvae*, al presentar diversos valores de CIM. Sin embargo el EH mostró una mejor actividad antibacteriana en comparación con las fracciones, demostrando valores de CIM menores (0,39 µg/ml) que las fracciones, donde el valor más bajo de CIM se encontró en la fracción 4 y 6 (1,9 µg/ml). El efecto del EH sobre *P. larvae* podría deberse a un efecto sinérgico de los diferentes compuestos que lo conforman, ya que se ha observado en otras investigaciones con plantas medicinales, que ningún compuesto por separado muestra una mayor actividad que el extracto total (Boligon et al. 2013; Piana, 2015). Esto estaría indicando la existencia de interacciones sinérgicas entre los metabolitos presentes en la planta que potencializan el efecto para el control de bacterias patógenas. No se observó efecto bactericida.

CONCLUSIONES

- Tanto el EH como las fracciones fueron capaces de inhibir el crecimiento de *P. larvae*.
- El EH mostró una mejor actividad antibacteriana en comparación con las fracciones.

-Los resultados obtenidos demuestran que *A. saturoioides* ejerce un efecto bacteriostático sobre la forma vegetativa del patógeno *P. larvae* a concentraciones relativamente bajas, y por lo tanto constituiría una alternativa natural para el control de la bacteria en las colmenas.

BIBLIOGRAFÍA

Genersch, E. (2010). American Foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus larvae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S10–S19

Retta, D (2014). Determinación de calidad de “marcela” *Achyrocline saturoioides* (lam.) DC. *Dominguezia.*, 30, 1-13.

Evans, J.D. (2003). Diverse origins of tetracycline resistance en the honey bee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*. *J. Inv. Pathol.* 83, 46–50.

Still, M.; Kahn, M.; Mitra, A. (1978). Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution. *Journal of Organic Chemistry*, 43, 2923 - 2925.

Mann, C. M.; Markham, J. L. (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *J. Applied Microbiol.* 84:538-544.

Finelgold, S.; Baron, E.; Braily, S. (1992). Diagnóstico microbiológico, aislamiento e identificación de microorganismos patógenos. Ed Médica Panamericana Bs. As., 36: 514-533.

Boligon, A; Faccim, T; Zadra, M. (2013). Antimicrobial activity of *Scutia buxifolia* against the honeybee pathogen *Paenibacillus larvae*. *Journal of Invertebrate Pathology.* 112:105–107

Piana, M; Faccim, T; Boligon, A; Alves, C. (2015). In vitro growth-inhibitory effect of Brazilian plants extracts against *Paenibacillus larvae* and toxicity in bees. *Anais da Academia Brasileira de Ciências.* 87(2): 1041-1047