
Artículo científico

CONCENTRACION DE CUATRO GRUPOS DE MICROORGANISMOS EN POLVOS Y EXTRACTOS DE TILO (*Justicia pectoralis* var. *pectoralis*)

Janet Rodríguez Sánchez, Yoania Ríos Rocafull y Yaisely Orquídea Hernández Fernández.

MSc. Janet Rodríguez Sánchez. <https://orcid.org/0000-0002-8974-9215>. Investigador Agregado del Departamento de Recursos Genéticos Microbianos y Productos Bioactivos del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT). Calle 188 no. 38754 e/ 397 y Linderos, Santiago de las Vegas. La Habana. Cuba. E-mail: bioferbiocontrol@inifat.co.cu

Dr.C. Yoania Ríos Rocafull. <https://orcid.org/0000-0003-1774-0868>. Investigador Auxiliar del Departamento de Recursos Genéticos Microbianos y Productos Bioactivos del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT). Calle 188 no. 38754 e/ 397 y Linderos, Santiago de las Vegas. La Habana. Cuba. E-mail: dpagrobiotec@inifat.co.cu

MSc. Yaisely Orquídea Hernández Fernández. <https://orcid.org/0000-0003-4941-539X>. Investigador Auxiliar del Departamento de Producciones Especializadas del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT). Calle 188 no. 38754 e/ 397 y Linderos, Santiago de las Vegas. La Habana. Cuba. E-mail: quimicapost@inifat.co.cu

RESUMEN

El Tilo es muy utilizado en la producción de fitofármacos, debido a su poder sedante. Actualmente aumenta su demanda, pero la materia prima debe cumplir con los requisitos de inocuidad que impone la industria. La presente investigación partió del trasplante de tilo con treinta días de edad, sobre bandejas que se llenaron con suelo o con un sustrato compuesto por una mezcla de suelo y humus de lombriz al 50 %. Después de la siembra, la mitad se colocó a la sombra y la otra parte al sol. Se determinó la concentración de microorganismos heterótrofos totales, hongos, levaduras y enterobacterias y se evaluó el efecto de métodos físicos y químicos para reducir la carga microbiana en muestras de plantas y en sus extractos, mediante el Método de Diluciones Seriadas. Los resultados demostraron que, entre las dos formas de secado utilizadas, el secado solar fue más eficiente porque logró disminuir la concentración de algunos de los grupos en uno y hasta dos órdenes (desde 10^7 en las muestras frescas hasta 10^4 - 10^5 UFC.mL⁻¹ en las secas). El lavado y desinfección de las muestras también resultó efectivo, al impedir el crecimiento de dos grupos microbianos y reducir la concentración de los otros dos. En los extractos, obtenidos por el método de percolación posterior al secado solar, solo creció una baja concentración de microorganismos totales (10^3 UFC.mL⁻¹). Esta reducción es importante y puede contribuir a que estas materias primas y extractos se empleen para la fabricación de medicamentos de uso humano.

Palabras clave: concentración microbiana, post-cosecha, tilo

ABSTRACT

Concentration of four groups of microorganisms in dry samples and extracts of tile (*Justicia pectoralis* var. *pectoralis*)

The Tile is very used in phyto farmacus production, due to its sedative power. At the moments their demand increases, but the matter prevails it should with the inocuity requirements that its imposes the industry. It present investigation it left of Tile transplant with thirty days of age, on trays that were filled with soil and with sustrabs for a soil and lombris humus mixture to 50 percent. After the plantation, the half was placed to the shade and the other part in the sun. It was determinate the microorganisms heterotrophs totals, mushrooms, yeasts and enterobacterias and its was evaluated the effect of physical and chemist methods to reduce the microbial load in samples of plants and in their extracts by means of the Dilutions Seriates Method. The results demonstrated that, among the two used drying forms the solar drying was more efficient because it was able diminish the concentration of some of the groups in one or up to two orders (from 10^7 in the fresh samples until 10^4 - 10^5 UFC.mL⁻¹ in the dry). The washed and disinfection of the samples was also effective, when impeding the growth of two microbial growths and to reduce the concentration of the other ones two. In the extracts, obtained by the method of percolation of later of the solar drying, alone a low concentration of total microorganisms grew (10^3 UFC.mL⁻¹). This reduction is important, and it can contribute to that these matters cousins and extracts are employed for the productions of medications of human use.

Key words: microbial concentration, postharvest, linden

INTRODUCCIÓN

El Tilo (*Justicia pectoralis* var. *pectoralis*) es una de las especies de plantas medicinales más empleadas en Cuba, debido a su poder sedante. aunque se conoce que posee otros metabolitos que pueden contribuir a reducir el calor corporal y algunos de los síntomas de la menopausia (Soto, 2021). Sin embargo, no ha sido estudiada a profundidad la microbiota que es capaz de asociarse a la planta y provocar efectos positivos en su crecimiento y desarrollo. En los últimos años la demanda de las materias primas (hojas y ramas) ha aumentado considerablemente. Sin embargo, para que dichos materiales puedan ser usados con esos fines, deben cumplir con los requisitos de inocuidad que exige la industria. En este sentido, el Ministerio de Salud Pública (MINSAP) establece normas inviolables para evaluar su calidad, donde uno de los aspectos que se identifica es la concentración de algunos grupos de microorganismos, cuya presencia

provoca la descalificación de las materias primas y de sus extractos. En el INIFAT se ha trabajado con tecnologías de cultivo y post cosecha de esta especie, cuyo fin ha sido el incremento de los rendimientos sin provocar afectaciones en la calidad fitoquímica de los principios activos. El objetivo del presente estudio fue determinar la concentración de microorganismos heterótrofos totales, hongos, levaduras y enterobacterias en tilo, cultivado en distintas condiciones, en sus extractos y luego de la aplicación de tratamientos post cosecha para disminuir el crecimiento de estos grupos microbianos en las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en las áreas agrícolas y de experimentación del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT) en el período comprendido en las campañas de los años 2018 – 2019 y 2019 - 2020.

El conteo de los cuatro grupos microbianos seleccionados se efectuó con polvos secos obtenidos a partir de hojas y ramas de tilo que se cultivaron en condiciones semi – controladas. Se partió del trasplante de posturas con 15 cm de longitud a una distancia de siembra de 10 cm entre hileras y 20 cm entre plantas. La siembra se realizó en contenedores de 2 m². Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con cuatro variantes y tres réplicas de cada una. En dos de las variantes las bandejas se llenaron con suelo Ferralítico Rojo (Hernández, 2015) y en la otras dos se depositó igual cantidad de un sustrato formado por una mezcla al 50 % de suelo y humus de lombriz. Una vez sembradas, las bandejas se colocaron la mitad al sol y la otra parte a la sombra.

Al finalizar el ciclo del cultivo (120 días), se tomaron plantas frescas que se molinaron y tamizaron hasta obtener un polvo seco de un milímetro de diámetro. Este mismo procedimiento se siguió para preparar las muestras en las que se evaluó la incidencia de tratamientos físicos de secado, lavado y desinfección en la reducción de la concentración microbiana. En el caso del secado se utilizaron dos formas, una en una estufa de laboratorio de la marca MEMMERT, a una temperatura de 40° C durante 45 h y la otra en un secador solar durante cinco días con una temperatura entre 30-42° C. Para la muestra en la que se evaluó el lavado este se realizó con agua destilada estéril por tres veces durante un minuto y luego se desinfectó con una solución al 0.1 % de hipoclorito de sodio. Después de este procedimiento se secaron al aire.

La carga microbiana también se valoró en extractos de las plantas procedentes de los distintos tratamientos, luego de someterse previamente al secado solar. Para ello, se usó el método de percolación, mediante una

maceración de su contenido después de estar en una solución de alcohol al 70 % durante 72 h a temperatura ambiente.

La concentración microbiana en las distintas muestras se realizó a través del Método de Diluciones Seriadas (Madigan *et al.*, 2018). El procedimiento consiste en tomar un gramo del polvo seco, el cual se disolvió sucesivamente en diluciones de concentración conocida (hasta 10⁻⁴) y se depositaron cien microlitros de la dilución final en superficie, sobre los medios de cultivo empleados en placas *Petri* de 90 mm de diámetro.

Para la determinación de las concentraciones de hongos y levaduras se utilizó el medio de cultivo Agar Extracto de Malta (EM). El conteo de los microorganismos heterótrofos totales se realizó en el medio Agar Nutriente (BIOCEN, 2019). Estas dos formulaciones se consideran generales debido a que permiten el crecimiento de la mayoría de los géneros poco exigentes. Para las enterobacterias se usó el medio Agar McConkey, que constituye un medio diferencial para estas especies. La incubación para el conteo de las colonias se efectuó durante 24-48 horas para los microorganismos totales, hongos y levaduras y durante 120 horas para las enterobacterias.

El procesamiento estadístico de los datos se realizó con el uso de los programas Microsoft Excel con el que se elaboraron los gráficos y se transformaron los datos de concentración microbiana al LN de sus medias y STATGRAPH Plus versión 5.0. Con este último se empleó un análisis de varianza entre los distintos tratamientos, a partir de un diseño completamente aleatorizado. Se comprobó previamente la normalidad y homogeneidad de las varianzas, a través del protocolo descrito por Kolmogorov-Smirnov, Cochran C, Hartley y Bartlett. Cuando existieron diferencias

significativas entre los tratamientos, las medias se compararon según la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan al 5 % de significación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las normas que posee el Ministerio de Salud Pública (MINSAP, 2009) para la aceptación de plantas con vistas a la fabricación de medicamentos de uso humano y veterinario, establecen una concentración microbiana máxima permisible de 10^7 UFC.mL⁻¹ cuando se trata de géneros en los que se conoce, que son menores las probabilidades de patogenicidad, como es el caso de los microorganismos totales. No así, para el caso de las enterobacterias, cuya concentración debe ser inferior a 10^3 UFC.mL⁻¹ y la *Salmonella* cuya presencia debe ser nula y puede implicar la descalificación del material. En el caso de los hongos y las levaduras, esta norma no es específica. No obstante, otra publicación reciente plantea que su

concentración debe encontrarse entre estos dos límites, pero se realiza la aclaración de que las especies predominantes no deben producir metabolitos o toxinas (Zschau, 2018). De ahí la necesidad de mantener sus concentraciones lo más cercanas posible al límite inferior.

La muestra compuesta por las plantas frescas sembradas sobre suelo que se mantuvieron a la sombra, mostró crecimiento de los cuatro grupos microbianos (Figura 1). En estas, los hongos y las levaduras alcanzaron un valor entre 10^5 - 10^6 UFC.mL⁻¹. Este nivel de crecimiento es propiciado por las condiciones de humedad permanente y por la aireación que se provoca en este ambiente. Las enterobacterias por su parte presentaron un crecimiento superior al resto de los grupos estudiados (10^9 UFC.mL⁻¹) que no se alcanzó en ninguno de los restantes tratamientos, lo que indicó que estaban como contaminantes de ese suelo.

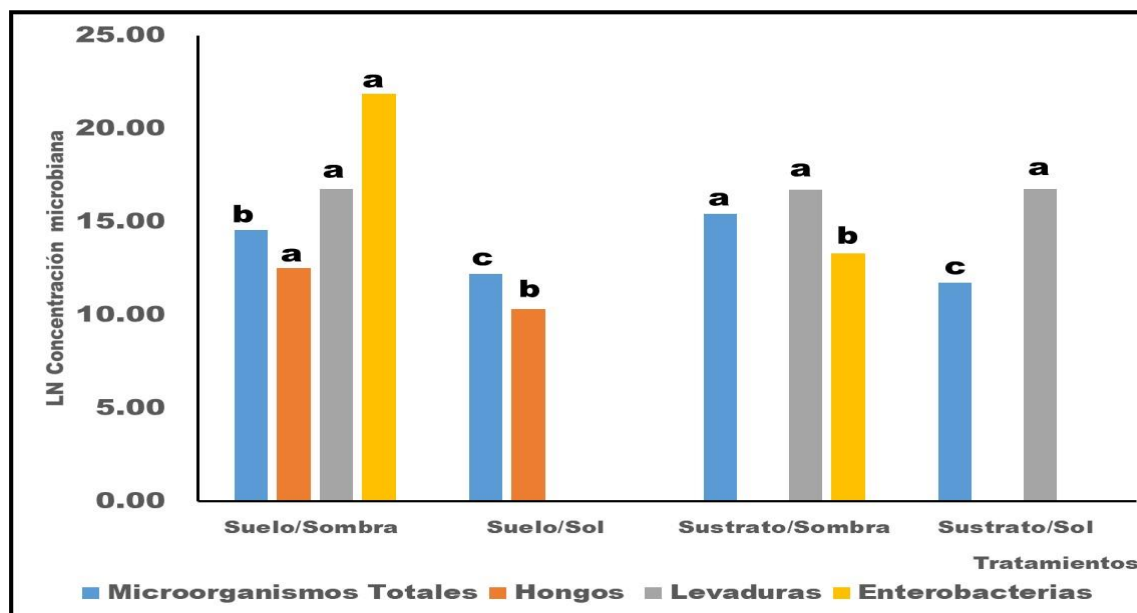


Figura 1. Concentración de cuatro grupos microbianos en muestras de Tilo frescas en distintas condiciones experimentales. Barras con letras distintas difieren significativamente entre sí para $p \leq 0.05$.

A la distancia de siembra utilizada, las plantas desarrollaron hojas de mayor tamaño, que

propició el aumento de la cantidad de follaje, lo que incidió en el mantenimiento de la humedad

por mayores períodos de tiempo e influyó en que los microorganismos asociados, tengan una mayor posibilidad de reproducirse y de colonizar la rizosfera y el interior de las plantas (Moreno Resendez *et al.*, 2018). Resultados similares fueron obtenidos por Torres *et al.* (2022) al utilizar la modalidad de cultivo semi – protegido. Estos autores compararon el número de ramas y hojas en plantas cultivadas a la sombra y al sol. A la sombra se produjo una menor degradación de la materia orgánica que forma parte del sustrato, lo que incide positivamente en las funciones de la fauna edáfica asociada al cultivo. En las plantas frescas sembradas a la sombra sobre sustrato se obtuvieron menores niveles de crecimiento de dos de los grupos microbianos seleccionados (microorganismos totales y enterobacterias), mientras que no se produjo crecimiento de los hongos, debido quizás, a la no presencia en el sustrato de esporas o estructuras de resistencia de este grupo. Las levaduras crecieron hasta el orden de 10^7 UFC.mL⁻¹ (Gráfico 1). Este comportamiento puede deberse a que el nivel de humedad que se mantuvo fue adecuado para su reproducción o a que el Tilo produzca exudados radicales que atraigan a representantes del mismo a su rizosfera, los cuales pueden penetrar a las hojas u otros órganos y permanecer en su superficie (Posada *et al.*, 2021).

Tolosa y Lizarazo (2014) aislaron e identificaron microorganismos rizosféricos y endófitos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.). Al enumerar la concentración de esos microorganismos en la rizosfera de las plantas encontraron un 50.80 % de formas bacilares Gram negativas y 49.82 % de bacilos esporulados en órdenes entre 10^8 - 10^9 UFC.mL⁻¹. Además, identificaron tres géneros de actinomicetos, dos de levaduras y tres de hongos. en concentraciones entre 10^6 - 10^8 UFC.mL⁻¹. Resultados similares en cuanto a la

concentración microbiana se alcanzaron en este estudio.

Entre los tratamientos que se mantuvieron a la sombra, sembrados lo mismo sobre suelo que sustrato, difirió significativamente la concentración de los microorganismos totales y la de las enterobacterias. En el primero de los casos, aunque crecieron hasta el orden de 10^6 UFC.mL⁻¹ en ambos tratamientos, el análisis estadístico confiere diferencias debido al mayor número de colonias que lograron crecer en las *placas Petri* de medios de cultivo. En el segundo de los casos, se produjo el crecimiento hasta el orden de 10^5 UFC.mL⁻¹. Este hecho indicó que la sombra favorece el crecimiento microbiano de algunos de estos grupos, con valores superiores a los establecidos por las normas regulatorias, lo que implicaría el rechazo de estos materiales por parte de la industria.

En los tratamientos al sol descendió el crecimiento microbiano de los cuatro grupos estudiados. En las plantas sembradas sobre suelo solo crecieron los microorganismos heterótrofos totales y los hongos, ambos en el orden de 10^5 UFC.mL⁻¹. Sobre el sustrato crecieron los microorganismos totales y las levaduras, sin embargo, no crecieron los hongos ni las enterobacterias. La diferencia en el crecimiento de uno u otro género depende mucho de la presencia de formas latentes de éstos en los suelos, sustratos o en las propias muestras. El hecho de que los heterótrofos totales estén presentes en la mayoría de los tratamientos se debe al amplio rango de géneros bacterianos y fúngicos con posibilidades de crecer en los medios de cultivo empleados.

Por otra parte, la incidencia del sol de forma permanente provoca la elevación de la temperatura y al mismo tiempo, la reducción de la humedad de los suelos y sustratos. La unión de estos dos factores es la causa de la

disminución de la concentración microbiana como consecuencia del enlentecimiento de las reacciones metabólicas de los grupos estudiados que cuando se agudiza puede provocar la lisis celular (Castañeda, 2019).

Una vez que las células pierden su viabilidad no son registradas por este método. Además, cuando las superficies de las plantas se exponen a estas condiciones y se producen elevaciones bruscas de la temperatura, sobre todo en las horas de mayor incidencia solar, las enzimas que catalizan las reacciones metabólicas se inactivan, lo que provoca fallas en la asimilación de los nutrientes. Esta cadena de reacciones afecta también la supervivencia de los microorganismos (Caycedo *et al.*, 2021).

Los métodos de secado post cosecha utilizados para el procesamiento y como método para disminuir la concentración microbiana en dichas muestras, disminuyó la concentración de algunos grupos microbianos, cuando se

comparan los datos con los de las muestras frescas. Sin embargo, esa reducción no fue suficiente para que la materia prima sea aceptada para la producción de fitofármacos, si se tienen en cuenta las normas vigentes (MINSAP, 2009).

De manera general, las concentraciones superiores oscilaron en los órdenes entre $10^5 - 10^7$ UFC.mL⁻¹ y se manifestaron en los microorganismos totales y en las levaduras, mientras que los hongos y las enterobacterias alcanzaron concentraciones entre 10^4-10^6 UFC.mL⁻¹, independientemente del tipo de secado usado (Figura 2).

Al comparar la efectividad de las dos formas de secado sobre la reducción de las concentraciones microbianas se aprecian diferentes tendencias. En el Tilo sembrado en suelo a la sombra, crecieron tres de los grupos microbianos en los dos tipos de secado empleados.

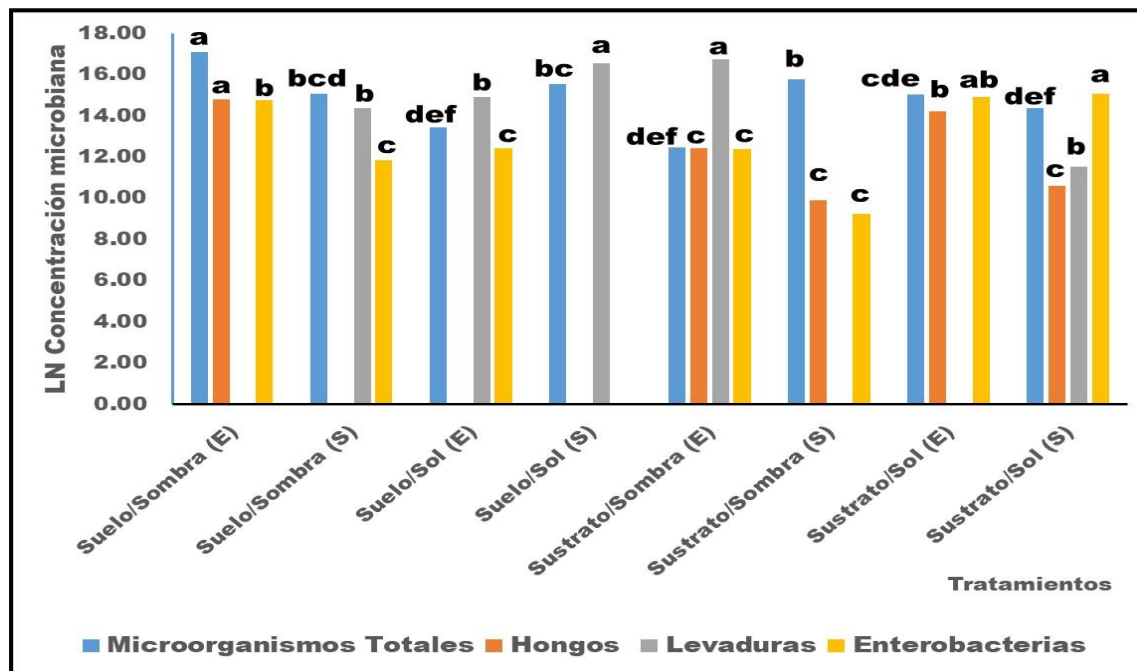


Figura 2. Efecto de tratamientos post cosecha de secado y desinfección sobre la concentración de cuatro grupos microbianos en muestras de Tilo. Barras con letras distintas difieren significativamente entre sí para $p \leq 0.05$.

La diferencia consistió en que los hongos se mantuvieron en la muestra que se secó en estufa, lo que puede deberse a la acción de la humedad relativa generada en el interior de la cámara de secado durante el proceso. También pudo influir un insuficiente tiempo de exposición al secado que no llegó a causar la lisis de las estructuras de resistencia de los grupos microbianos presentes. En la muestra deshidratada mediante la tecnología solar no crecieron los hongos y se logró disminuir en un orden la concentración de las enterobacterias, mientras que se produjo crecimiento de las levaduras. Este aspecto se atribuye a la oscilación en los niveles de temperatura, oxígeno y humedad que afectan este método.

En las plantas de Tilo sembradas sobre suelo y al sol durante el ciclo del cultivo, crecieron tres de los grupos microbianos estudiados cuando fueron secadas en estufa y solo dos de ellos cuando el secado se efectuó en el secador solar. En ambas muestras los microorganismos heterótrofos totales alcanzaron el orden de 10^6 UFC.mL⁻¹ y no se produjo crecimiento fúngico. Las levaduras no redujeron su concentración cuando se compara con las muestras de plantas frescas en ninguno de los dos tipos de secado. Por su parte, las enterobacterias solo crecieron cuando la muestra se secó en estufa, lo que pudo ser causado por el aire húmedo en el interior de las cámaras de secado. En este caso, el secado solar sugiere una mejor opción y debe constituir una alternativa promisorio para disminuir o eliminar a este grupo microbiano.

Las plantas que se sembraron sobre sustrato y que permanecieron a la sombra mostraron crecimiento de los cuatro grupos microbianos cuando el secado se efectuó en la estufa, aunque en concentraciones inferiores a las que se manifestaron en las plantas sembradas en suelo. En este caso, solo las levaduras reflejaron

un crecimiento superior a 10^5 UFC.mL⁻¹. Al emplear el secador solar se eliminaron las levaduras y descendieron en un orden el crecimiento los hongos y las enterobacterias. En las plantas sembradas sobre sustrato y mantenidas al sol se obtuvieron valores de crecimiento semejantes. No obstante, el secado solar logró la disminución de dos órdenes en el crecimiento fúngico, lo que indica que este tipo de secado puede ser más eficiente, si se ajustan algunos parámetros del proceso o se combina con algún otro método físico o químico que incida en la disminución de la carga microbiana.

De modo general, las diferencias en cuanto a la presencia de uno u otro grupo microbiano se pueden explicar a través de dos fenómenos. El primero de ellos está relacionado con los mecanismos de colonización de la rizosfera y la filosfera de las plantas, que inciden en que haya una mayor o menor concentración de estos grupos, en dependencia a la atracción que realizan los exudados radicales de las especies implicadas. El segundo es debido a las contaminaciones con representantes de esos grupos microbianos durante la siembra, recolección, procesamiento y conservación de los materiales vegetales. De ahí la necesidad de velar en la práctica por que se realicen procesos de secado eficientes con todos los materiales provenientes de distintos sistemas productivos, con el cumplimiento estricto de las Buenas Prácticas que garanticen una buena calidad e inocuidad de las materias primas.

El Tilo cultivado sobre suelo que se desarrolló a la sombra y que posteriormente fue lavado y desinfectado, solo mostró crecimiento de los microorganismos heterótrofos totales y de las enterobacterias (Figura 3). En este último grupo se logró disminuir su concentración hasta 10^3 UFC.mL⁻¹, nivel en que las materias primas son aceptadas por la industria solo con este

tratamiento. Además, los microorganismos totales alcanzaron el orden de 10^5 UFC.mL⁻¹ lo que no impide su utilización como materia prima.

Este hecho demuestra que la combinación de este método con un secado solar previo debe ser evaluado en el futuro.

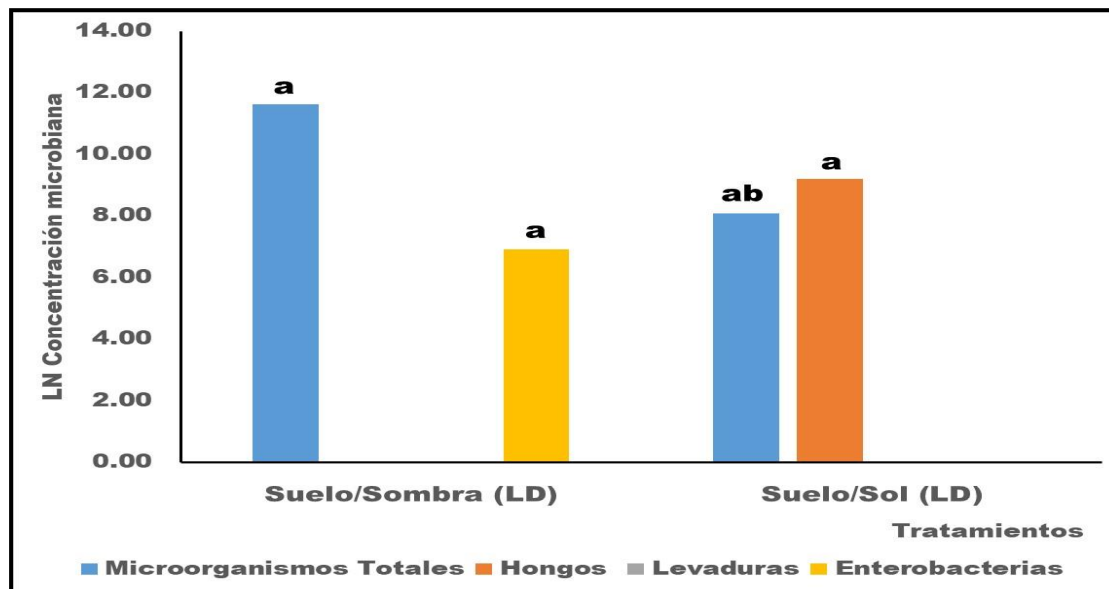


Figura 3. Efectividad de los métodos de lavado y desinfección sobre la concentración de cuatro grupos microbianos en muestras de Tilo previamente secadas al sol.

En las plantas colocadas al sol y sembradas sobre sustrato, lavadas y desinfectadas después de la cosecha, también crecieron solo dos grupos microbianos (microorganismos totales y hongos). En este caso, el tratamiento provocó el descenso de dos órdenes para los microorganismos totales (10^3 UFC.mL⁻¹), con respecto a las plantas que pasaron su ciclo de cultivo a la sombra y los hongos lograron crecer hasta niveles aceptables (10^4 UFC.mL⁻¹). Este comportamiento es lógico, si se tiene en cuenta que el sol provoca la elevación de la temperatura a intervalos, lo que consigue una disminución inicial de la carga microbiana de algunos de los grupos estudiados. El lavado y desinfección empleado después, elimina otra parte de la concentración que queda, lo que causa estos niveles de disminución de la concentración microbiana que resultan importantes. Lamentablemente no se puede realizar la

comparación con este mismo tratamiento sembrado sobre suelo pues las muestras no fueron procesadas de igual manera. Aunque se debe reconocer la importancia de realizar este tratamiento en el futuro.

Durante el procesamiento de los extractos se demostró que la carga microbiana disminuyó casi totalmente. En la Tabla 1 se observan los niveles de crecimiento de los cuatro grupos obtenidos en extractos alcohólicos elaborados a partir de plantas secadas mediante el método solar provenientes de los distintos tratamientos.

En la tabla se aprecia que los hongos, levaduras y enterobacterias no crecieron en ninguno de los extractos, mientras que se produjo el crecimiento de una baja concentración de microorganismos heterótrofos totales (10^3 UFC.mL⁻¹), en los extractos procedentes de las plantas que fueron sembradas inicialmente sobre sustrato. Aunque todas las muestras fueron sometidas

previamente al secado solar, no se evaluó la efectividad del tratamiento de lavado y desinfección después de la cosecha, por lo que

llegaron a la preparación de estos sin haber disminuido totalmente su carga microbiana inicial.

Tabla 1. Concentración de cuatro grupos microbianos en extractos de plantas de tilo cultivadas en distintas condiciones experimentales.

Tratamientos	Microorganismos Heterótrofos Totales	Hongos	Levaduras	Enterobacterias
Tilo/Suelo/Sombra	NC	NC	NC	NC
Tilo/Suelo/Sol	NC	NC	NC	NC
Tilo/Sustrato/Sombra	1,6 x 10 ³ UFC.mL ⁻¹	NC	NC	NC
Tilo/Sustrato/Sol	1,2 x 10 ³ UFC.mL ⁻¹	NC	NC	NC

Nota: NC: No Crecimiento

Por otro lado, la mezcla de humus de lombriz como constituyente del sustrato empleado aporta un contenido microbiano amplio y variado, que, al encontrar condiciones idóneas para su desarrollo, produce nuevas generaciones de células vegetativas que tienen posibilidades de quedar en los extractos y demeritar su calidad. No obstante, el hecho de que solo hayan crecido los microorganismos totales es una respuesta alentadora.

Resultados similares obtuvieron Arteaga *et al.* (2020), al evaluar la calidad y estabilidad microbiológica del producto Liplant. Ellos demostraron que cuando el producto se extrae a partir de humus, proveniente de estiércol vacuno, posee una carga bacteriana muy alta. En ese estudio, predominaron los grupos de bacterias beneficiosas con características promotoras del crecimiento vegetal después de un año de almacenamiento, pero fue difícil disminuir la presencia de *Streptococcus* sp. en el producto, lo que atribuyen a las altas concentraciones que poseía el sustrato inicial.

El método de percolación se desarrolló a temperatura ambiente, lo que puede incidir en la no destrucción de las estructuras de resistencia

que se mantengan adheridas a las superficies de las hojas.

En este aspecto, algunos autores han demostrado la pertinencia de emplear este método con el fin de extraer algunos metabolitos de plantas ya que se obtienen rendimientos favorables. Sin embargo, algunos apuntan que cuando el mismo se realiza a temperatura ambiente, varios de los grupos microbianos exceden las concentraciones límites permisibles para su utilización.

Celaya *et al.* (2022), evaluaron la efectividad de distintas combinaciones de alcohol y agua a temperaturas entre 30-70° C para la extracción de dos metabolitos procedentes de la planta *Stevia rebaudiana*. Para ellos, la mejor condición fue 35 % de etanol a una temperatura de 70° C en la cinética de extracción de las sustancias y 70 % de alcohol entre 50-70° C ya que provocó extractos con una mayor pureza.

Al mismo tiempo, demostraron crecimiento microbiano en los extractos obtenidos a 30-40° C al otro día de efectuar la extracción, independientemente de la concentración de alcohol empleada.

CONCLUSIONES

- ✓ Las concentraciones de los cuatro grupos microbianos en las muestras de plantas de tilo sembradas sobre suelo o sustrato, en condiciones de sombra permanente o sol frescas, obtienen valores de crecimiento entre 10^5 - 10^7 UFC.mL⁻¹, concentraciones que no son adecuadas para el empleo de las hojas y ramas de tilo con destino a la producción de fitofármacos.
- ✓ Los tratamientos físicos de secado utilizados consiguen la disminución de uno y hasta dos órdenes de los cuatro grupos microbianos estudiados. En este sentido, el secado solar demostró ser más eficiente.
- ✓ El lavado y desinfección del material vegetal posterior a la cosecha de las plantas permite una disminución significativa de la carga microbiana en las plantas de tilo sembradas sobre suelo que se mantuvieron lo mismo a la sombra que al sol.
- ✓ En los extractos obtenidos a partir de plantas de los distintos tratamientos no se obtuvo crecimiento de hongos, levaduras ni enterobacterias y disminuyó la concentración de los microorganismos heterótrofos totales hasta el orden de 10^3 UFC.mL⁻¹, lo que provoca que los mismos puedan ser utilizados por la industria.

RECOMENDACIONES

Evaluar la efectividad de la combinación entre distintos métodos físicos o químicos, entre los que se destacan el secado, el lavado y la desinfección de las muestras, durante el período post cosecha de las plantas y previo a su conservación, para reducir la carga microbiana presente en la rizosfera y en el interior de las plantas de tilo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arteaga, B.M.; Novo, S.E.; Pino, R.J.A.; Rodríguez, C.J. y Pérez, G.A. (2020). Estudio microbiológico y de estabilidad del extracto del vermicompost Liplant. *Revista de Ingeniería Agrícola*, 10 (3)
- BIOCEN (2019). Centro Nacional de Biopreparados. Catálogo de Medios de Cultivo. La Habana. Centro Nacional de Biopreparados. Ed. BIOCEN. Mayabeque. 44 p. Disponible en: www.biocen.cu. Fecha de consulta: 12 de diciembre de 2020.
- Castañeda, M.T. (2019). Estequiometría y cinética del crecimiento microbiano. Tesis en opción al Grado de Máster en Ciencias. Mención Fermentaciones Microbianas. 31 p. Disponible en: Repositorio de la Universidad Tecnológica de La Plata. Argentina. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-ca/3.0>. Fecha de consulta: 13 de diciembre de 2022.
- Caycedo, L.L.; Corrales, R.L.C. y Trujillo, S.D.M. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Revista NOVA*, 19 (36): 48-94. DOI: <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>.
- Celaya, L.; Ferreira, D.; Kolb, E. y Koslobsky, K. N. (2022). Extraction of Stevioside and Rebaudioside A from *Stevia rebaudiana* by percolation with ethanol-water solvents. *RECyT*. Año 24. No 38: 55-62. DOI: <https://doi.org/10.36995/j.recyt.2022.38.007>
- Hernández, S.A. (2015). Nueva versión sobre la Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. Editorial Científico-técnica. 300 p. ISBN: 978-959-296-039-8.
- Madigan, M.T.; Martincó, J.M.; Stahl, D.A. y Clark, D.P. (2018). *Brock Biology of Microorganisms*. Thirteenth Edition. Ed. Pearson Prentice Hall. Southern Illinois University. 1155 p. ISBN 13: 978-8-321-64963-8.

- MINSAP (2009). Resolución 321/2009. “Requisitos para el Registro Sanitario de Medicamentos de Origen Natural de Uso Humano”. Disponible en: www.infomed.sld.cu. Aula virtual. Fecha de consulta: 9 de junio de 2021
- Moreno Reséndez, A.; García, M.V.; Reyes, C.J. L.; Vázquez, A.J. y Cano, R.P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. Revista Colombiana de Biotecnología, XX(1): 68-83. DOI: 0.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707
- Posada, A.M.C.; Mejía, D.P.D.; Polanco, E.D. y Cardona, J.A.A. (2021). Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990-2019. Revista de Investigación Agraria y Ambiental de la Universidad Abierta y a distancia de Colombia. 12 (2): 161-176. ISSN: 2145-6453. DOI: <http://www.doi.org/10.22490/21456453.4040>
- Soto Enriquez, S.N. (2021). Importancia medicinal de las especies del género Justicia (*Acanthaceae*). Tesis en opción al Grado de Química Farmacéutica. Repositorio de la Universidad Central del Ecuador. 40 p. Disponible en: <http://scielo/ucf.fcq.cqf>.
- Fecha de consulta: 20 de diciembre de 2022.
- Tolosa Moreno, D.L. y Lizarazo Forero, L.M. (2014). Microbial populations associated with the rhizosphere and phyllosphere plants of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L.). Revista de Ciencias. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad del Valle. 18 (2): 27-38. ISSN: 0121-1935.
- Torres Leblanch M.; Hernández Fundora Y.; Hernández Fernández Y.O.; Rodríguez Martínez J.; Díaz Miranda Y.; Cruz Ortega A.; Rodríguez García M.I.; Álvarez Lora M.E.; Duarte Morales Y. y Pérez Rodríguez. L. (2022): Influencia de las condiciones edáficas y de producción en los componentes del rendimiento del tilo (*Justicia pectoralis* J. var. *pectoralis*). Agrotecnia de Cuba. 46 (2): 40-52 p.
- Zschau, M.E.R. (2018). Control microbiano en variedades de hierbas para infusión (Menta, Manzanilla, Boldo y Cedrón) de diferente origen y tratamiento desinfectante aplicado. Tesis en opción al título de Ingeniería de los Alimentos. 81 p. Disponible en: oail.repositorio.uchile.cl2250/173646. Fecha de consulta: 9 de junio de 2021.

Fecha de recepción: 17 abril 2023

Fecha de aceptación: 13 octubre 2023