

Efecto de medio de cultivo Agar Geisel a partir de *Moringa oleífera* (Moringa) una propuesta viable en el crecimiento de *Escherichia Coli*

Effect of Geisel Agar culture medium from *Moringa oleífera* (Moringa) a viable approach on the growth of *Escherichia coli*

Efeito do meio de cultura Geisel Agar da *Moringa oleífera* (Moringa) uma abordagem viável para o crescimento da *Escherichia coli*

Villanueva Pedraza, Edwaldo; Irigoin Cusma, Pedro Geisel;
Villanueva Guerrero, Jeiner Alexander; Cueva Valdivia, Johnny;
Piñarreta Neira, Wendi Violeta

Edwaldo Villanueva Pedraza
evillanueva@unibagua.edu.pe
Universidad Nacional Intercultural Fabiola Salazar
Leguía de Bagua, Perú

Pedro Geisel Irigoin Cusma
piterjack3@hotmail.com
Universidad Inca Garcilaso de la vega, Perú

Jeiner Alexander Villanueva Guerrero
47305906@iestpcajatambo.edu.pe
Instituto de Educación Superior Técnico Público
"Santa María Magdalena", Perú

Johnny Cueva Valdivia
jcueva@unibagua.edu.pe
Universidad Nacional Intercultural Fabiola Salazar
Leguía de Bagua, Perú

Wendi Violeta Piñarreta Neira
wendivioletaneira13@gmail.com
Universidad Nacional Intercultural Fabiola Salazar
Leguía de Bagua, Perú

Revista Científica Dékamu Agropec
Universidad Nacional Intercultural Fabiola Salazar Leguía de Bagua, Perú
ISSN: 2709-3190
ISSN-e: 2709-3182
Periodicidad: Semestral
vol. 3, núm. 2, 2022
dekamuagropec@unibagua.edu.pe

Recepción: 23 Septiembre 2022
Aprobación: 30 Octubre 2022

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/744/7444294005/>

Resumen: El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad del medio agar Geisel preparado a diferentes concentraciones de *Moringa oleífera* en comparación con un medio comercial sobre el crecimiento y desarrollo de cepas de *Escherichia Coli*. Se evaluó el crecimiento microbiano a diferentes concentraciones de *Moringa oleífera* (Moringa), 0.1, 1 y 5% (p/v) en un medio de cultivo denominado Agar Geisel y como control un medio de cultivo en placa de agar comercial. Las bacterias se inocularon utilizando una técnica de estrias múltiples (con agotamiento) y luego se incubaron para evitar la condensación durante la incubación a 37 °C durante 24 a 48 h. Para evaluar el crecimiento de las cepas expresadas en unidades formadoras de colonias, consideramos las características culturales y microscópicas. Se concluye que el medio de cultivo alternativo preparado con una dilución al 1% de agar Geisel de Moringa contiene los nutrientes necesarios y suficientes para el crecimiento, desarrollo, supervivencia y viabilidad de la bacteria (*Escherichia Coli* ATCC No. 8739).

Palabras clave: Escherichia, Agar, medios de cultivo.

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effectiveness of the Geisel agar medium prepared at different concentrations of *Moringa oleífera* (Moringaceae) in comparison with a commercial medium on the growth and development of *Escherichia coli* strains. Microbial growth was evaluated at different concentrations of *Moringa oleífera* (Moringa), 0.1, 1 and 5% (w/v) in a culture medium called Geisel Agar and as a control a commercial agar plate culture medium. Bacteria were inoculated using a multiple streaking technique (with depletion) and then incubated to prevent condensation during incubation at 37 °C for 24 to 48 h. To evaluate the growth of strains expressed in colony-forming units, we considered cultural and microscopic characteristics. We conclude that an

Copyright UNIFSLB, 2022



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional.

alternative culture medium prepared with a 1% dilution of Moringa oleifera Geisel agar contains the necessary and sufficient nutrients for the growth, development, survival and viability of the bacterium (*Escherichia coli* ATCC No. 8739).

Keywords: *Escherichia*, Agar, meios de cultura.

Resumo: O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do meio de ágar-ágar Geisel preparado em diferentes concentrações de Moringa oleifera (Moringaceae) em comparação com um meio comercial no crescimento e desenvolvimento das cepas de *Escherichia coli*. O crescimento microbiano foi avaliado em diferentes concentrações de Moringa oleifera (Moringa), 0,1, 1 e 5% (p/v) em um meio de cultura chamado Geisel Agar e como controle um meio de cultura comercial de placas de ágar. As bactérias foram inoculadas usando uma técnica de múltiplas estrias (com esgotamento) e depois incubadas para evitar a condensação durante a incubação a 37 °C durante 24 a 48 h. Para avaliar o crescimento das linhagens expressas em unidades formadoras de colônias, consideramos as características culturais e microscópicas. Concluímos que um meio de cultura alternativo preparado com uma diluição de 1% de ágar de Moringa oleifera Geisel contém os nutrientes necessários e suficientes para o crescimento, desenvolvimento, sobrevivência e viabilidade da bactéria (*Escherichia coli* ATCC No. 8739).

Palavras-chave: *Escherichia*, Agar, meios de cultura.

INTRODUCCIÓN

Los medios de cultivo comerciales se preparan a partir de extractos de carne de animales como fuente de proteína, que sirven como alimento para una gran variedad de microorganismos, permitiendo su rápida identificación y aislamiento (Alarcón et al., 2004), y puede estar presente en varios tipos de muestras y fluidos de interés clínico (Kusters et al., 2006). Sin embargo, provocan costos muy elevados en procesos rutinarios a gran escala o de uso masivo en laboratorios bacteriológicos, limitando así la investigación y la conservación de cepas microbianas en laboratorios (Lara & Oviedo, 2010).

En este sentido, se ha estudiado el uso de medios de cultivo alternativos obtenidos a partir de los subproductos de la industria agrícola, los sustratos de pulpa de café (Bermúdez et al., 2014), melaza de caña de azúcar, suero de leche (Aguilar et al., 2015); los cuales han demostrado favorecer el crecimiento de diferentes tipos de microorganismos que son difíciles de aislar (Lara & Chálela, 2002) y especialmente aquellos que crecen de forma naturalmente en dichos sustratos (González et al., 2014), los cuales fueron de fácil obtención y con alta disponibilidad, lo que reduce el costo final del medio.

La moringa oleífera (Moringaceae) es una planta muy apreciada originaria del Himalaya que se ha extendido a muchos países tropicales y subtropicales (Silva et al., 2014), cuyos frutos, semillas, hojas y raíces verdes contienen compuestos químicos como glucosinolatos, isotiocianatos, flavonoides, alcaloides, carbohidratos, cetonas, antocianinas, proantocianidas y compuestos fenólicos (Monika et al., 2020). Diversos autores han encontrado que las hojas contienen más de 25% proteínas y son ricas en calcio, hierro, fósforo y potasio (Indira et al., 2017;

Daba, 2016). Esta planta es ampliamente utilizada y reconocida para el tratamiento de trastornos cardiovasculares. Además, tienen efectos antimicrobianos, antiulcerosos, hepatoprotectores, hipocolesterolemiantes, cardioprotectores y antidiabéticos (Singh & Digvijay, 2021).

En este contexto, varios estudios sobre *Moringa oleífera* como extractos acuosos se evaluaron la susceptibilidad antibacteriana de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* in vitro (Pérez et al., 2016); estafilococos, *Salmonella aureus*, *Escherichia coli* (Ojiako, 2014); y mostraron inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los extractos (Ervianingsih et al., 2019). Sin embargo, hay muy poca información sobre el uso de *Moringa oleífera* para el desarrollo de medios que favorezcan el crecimiento y mantenimiento de bacterias, por lo que queda por determinar si es adecuado para el crecimiento de poblaciones microbianas (Villalobos et al., 2007).

Con base en lo mencionado, el objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad del medio agar Geisel preparado a diferentes concentraciones de *Moringa oleífera* en comparación con un medio comercial sobre el crecimiento y desarrollo de cepas de *Escherichia coli*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega (12° 04' 58" latitud Sur y 77° 06' 17" Longitud Oeste). La *Moringa oleífera* fue procedente de la comunidad campesina "Santa Lucía de Ferreñafe, del sector 5 "El Progreso", Distrito de Pátapo, ubicado a 118 msnm L. 06°38'24" del Departamento de Lambayeque. Las cepas identificadas como *Escherichia coli* fueron aisladas en el Laboratorio

Biológico y Análisis Clínico Santa Rosa de Pachacamac E.I.R.L. y se mantuvieron en agar dextrosa Sabouraud hasta el inicio de la evaluación. Una vez empezado el estudio se inició con la resiembra agar Geisel elaborada de *Moringa oleífera* y un Agar Plate Count (medio comercial) como control, para verificar su crecimiento (Lightfoot y Maier, 2002).

Medios de cultivos en evaluación

Para la preparación de los medios de cultivo se emplearon *Moringa oleífera* teniendo en cuenta los siguientes pasos en la preparación:

Se utilizaron 2500 gramos de hojas de *Moringa oleífera*; las cuales se limpiaron, secaron y trituraron, posteriormente se pulverizó y se maceró en alcohol al 96° por 22 días, después se sometió a filtración, deshidratación y secado a una temperatura de 42°C por 45 horas, para luego, pasar por envase de vidrio ámbar estéril, obteniéndose 280 gr de melcocha, se añadió 20 gr de agar y 20 gr de dextrosa, se disolvió por calentamiento, en la que se diluyó a diferentes concentraciones: 0.1, 1, 5% p/v, ajustando el pH a 5,6 (Lara & Chálela, 2002) y constituida como Agar Geisel (*Moringa oleífera*), como control se utilizó Agar Plate Count (Merck) de formulación comercial.

Las bacterias se inocularon utilizando la técnica de estrias múltiples (con agotamiento) y luego se incubaron para evitar la condensación durante la incubación a 37°C durante 24-72 h. A las 24 horas de incubación se realizó una lectura preliminar y a las 72 horas se anotaron los resultados en los medios de cultivo formulados y preparados.

Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza (ANOVA) para evaluar velocidad de crecimiento de esporas bacterianas a diferentes concentraciones en medio agar Geisel (*Moringa oleífera*) y medio comercial

(Rojas & Moreno, 2008). Con la prueba de Tuckey se comparó las tasas de crecimiento promedio de los cultivos, y luego se formaron grupos a partir de aquellos medios con mayor similitud en los resultados (nivel de significación $p < 0,05$). Estos análisis se obtuvieron utilizando el software R versión 2.10.1.

RESULTADOS

Las concentraciones de Moringa oleífera (0.1, 1, 5% p/v) el control Agar Plate Count (medios comerciales) y las cepas bacterianas (*Escherichia coli* ATCC No. 8739) lograron tasas de crecimiento de esporulación que permitieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en Agar Geisel diluido al 1% con respecto Agar Geisel 0.1 y 5% respectivamente, como muestra Tabla 1. Sin embargo, los resultados sugieren que el aporte nutricional Agar Geisel diluido 1% es semejante al aportado por el medio comercial Agar Plate Count (Merck).

La Tabla 2 muestra los resultados de productividad y selectividad del medio agar Geisel con subpoblaciones homogéneas de Tuckey y mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) en el crecimiento de Bacteriológico (*Escherichia coli* ATCC No. 8739) en agar Geisel a diluciones del 1%. comparado con agar Geisel que estuvieron diluidos al 0,1 y 5%. Además, el medio de agar Geisel de Moringa al 1% fue más homogéneo en comparación con el medio de cultivo comercial.

TABLA 1
ANOVA para la Velocidad de crecimiento de esporas bacterianas durante 72 horas en medio de agar Geisel

Medios de cultivo Criterios de identificación	Agar Geisel 0.01%	Agar Geisel 1%	Agar Geisel 5%	Agar Plate Count (Merck)
Velocidad de crecimiento	++	+++	+	+++
Tiempo de esporulación	72 horas	72 horas	72 horas	72 horas

Agar Geisel: Agar Moringa oleífera 0.1%; Agar Geisel: Agar Moringa oleífera 1%; Agar Geisel: Agar Moringa oleífera 5%; Agar Plate Count (Merck): Agar Dextrosa Comercial (control); Crecimiento alto +++; Crecimiento medio ++; crecimiento bajo +

TABLA 2
Tabla de subconjuntos homogéneos de Tuckey

Tratamiento de medios de cultivo	Nº de	1	2	3
Agar Geisel 5%	5	Crecimiento bajo		
Agar Geisel 0.1%	5	Crecimiento medio		
Agar Geisel 1%	5	Crecimiento		

DISCUSIÓN

Los resultados del estudio demostraron que el medio de cultivo alternativo agar Geisel obtenido a partir de Moringa contiene los nutrientes necesarios y adecuados para el crecimiento, desarrollo, conservación y viabilidad de la bacteria (*Escherichia coli*); Esto puede deberse a las propiedades nutricionales de esta planta, especialmente en las hojas de Moringa, que según estudios contiene 27 % de proteínas y un 18.5 % de carbohidratos (Indira et al., 2017). Además, que este sustrato es una fuente importante de carbohidratos,

aminoácidos, vitaminas, proteínas, fibra y oligoelementos (Gomez & angulo, 2014; Nweze & Nwafor, 2014). Considerando que las composiciones químicas de los medios comerciales tienen proteínas, carbohidratos y fuentes minerales similares a los medios alternativos (Lara & Oviedo, 2010).

Diversos estudios han demostrado, como Eevers et al. (2015) encontraron una respuesta optimista cuando probaron diluciones de 0.001-1% de extracto vegetal para preparar un medio de cultivo alternativo lo que permitió ser altamente viables en el crecimiento de bacterias en placas. Esto nos permitió comparar con este estudio que la mejor respuesta se obtuvo directamente con el tratamiento formulado a base de Moringa oleífera al 1% de dilución como medio de cultivo agar Geisel y la mejor respuesta al crecimiento bacteriano (*Escherichia coli*) permitiendo una apariencia uniforme, sin olor desagradable a sedimento, debido a que el medio de cultivo contiene una gran cantidad de proteínas y carbohidratos, que son esenciales para el crecimiento de bacterias (Reis, 200).

CONCLUSIONES

El estudio demostró que la utilidad de un medio de cultivo alternativo formulado con una dilución al 1% Moringa oleífera agar Geisel contiene los nutrientes necesarios y suficientes para el crecimiento, desarrollo, conservación y viabilidad de la bacteria (*Escherichia coli*). El cual ha demostrado ser un medio eficaz para el crecimiento completo de bacterias en placas y que responde bien en comparación con un medio comercial. Su bajo costo y alta productividad le han dado a la Moringa nuevos usos como buen insumo y puede comercializarse como medio de cultivo para laboratorios bacteriológicos.

BIBLIOGRAFIA

- Aguilar, J., Espinoza, M., Cabanillas, J., Ávila, I., García, A., Julca, J., Tacanga, D., Zuta, I y Linares, G. (2015). "Evaluación de la cinética de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y suero lácteo," *Agroindustrial Science*, vol. 5, pp. 37 – 47.
- Alarcón, T., Baquero, M., Domingo, D., López, M Y Royo, G. (2004). *Procedimientos en microbiología clínica. Diagnostico microbiológico de la infección por Helicobacter pylori*, 1a edición, Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid, España., 27. ISBN: 84-609-392-0
- Bermúdez, R., García, N., Serrano, M., Rodríguez, M y Mustelier, I. (2014) "Conversión de residuales agroindustriales en productos de valor agregado por fermentación en estado sólido," *Revista Tecnología Química*, vol. 34, pp. 263 – 274.
- Daba M. Miracle. (2016). A review on multi-purposes of Moringa oleífera and its implication for climate change mitigation. *J Earth Sci Cli Change*.,7(4):8. <https://doi.org/10.4172/2157-7617.1000366>
- Eevers N ,M. Gielen,A. Sánchez-López,S. Jaspers,J. C. White,J. Vangronsvel. (2015). Optimization of isolation and cultivation of bacterial endophytes through addition of plant extract to nutrient media. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12291>
- Ervianingsih , M Mursyid , R N Annisa , I Zahran , J Langkong and I Kamaruddin. (2019) Antimicrobial activity of moringa leaf (*Moringa oleífera* L.) extract against the growth of *Staphylococcus epidermidis*. <https://iopscienc.e.iop.org/article/10.1088/1755-1315/343/1/012145/pdf>
- Gómez, A.V.; Angulo, K. (2014). Revision de las características y usos de la planta moringa oleífera. *Artic. De Revis.*, 22, 309–330.
- Silva Jaimes, Marcial Ibo, Cibej López, Fabio Enzo, Salvá Ruíz, Bettit, Guevara Pérez, Américo, & Pascual Chagman, Gloria. (2018). Efecto del desamargado de la torta de semilla de moringa (*Moringa oleífera*) sobre su composición proximal y su perfil nutricional y toxicológico. *Scientia Agropecuaria* , . (2), 247-257.
- Kusters, G.J., Van Vliet, H.M., Arnoud, A., Kuipers, J Y Ernst, J. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiolog.* July, 449-90. <https://doi.org/10.1128/CMR.00054-05>.

- Lara, C. Mendoza, C. y Oviedo, L. (2010). "Productividad y selectividad del medio de cultivo a partir de guayaba agria (*Psidium araca*) en el crecimiento de levaduras nativas del genero *Candida* sp.," Revista Colombiana de Biotecnología, vol. 12, pp. 116-123.
- Lara, M. C. (2008). Análisis químico del medio *Psidium araca* al 25 % p/v. Rev. Archivos de Zootecnia, 57(217): 79-82
- Lara, M. C. y Chalela A. (2002). Nuevo medio de cultivo para el aislamiento de microorganismos ruminales. Arch. Zootecnia, 51 (195): 404-404.
- Lightfoot, N. F. y Maier, E. A. (2002). Análisis microbiológico de alimentos y aguas. Directrices para el aseguramiento de la calidad. Zaragoza: Aribia.
- María Pérez, Lilibeth Cabrera y Gisela Colina (2018) *Pseudomonas aeruginosa* sensitive to extract of leaves and seeds of *Moringa oleifera*. ISSN 2244-7334 / Depósito legal pp201102ZU3769 Vol. 8 N° 2 • Julio - Diciembre 2018: 61-67.
- Rojas Sierra, J y Moreno-Sarmiento, N. (2008). Producción y formulación de prototipos de un biofertilizante a partir de bacterias nativas asociadas al cultivo de arroz (*oryza sativa*). Universidad Nacional de Colombia.
- Nweze, Nkechinyere & Nwafor, Felix. (2014). Phytochemical, Proximate and Mineral Composition of Leaf Extracts of *Moringa oleifera* Lam. from Nsukka, South-Eastern Nigeria. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 9. 99-103. 10.9790/3008-091699103.
- Ojiako, Eugenia Nonye, (2019). Phytochemical Analysis and Antimicrobial Screening Of *Moringa Oleifera*. Leaves Extract. 3. 32-35.
- Reis, FASL & Servulo, EFC & França, Francisca. (2004). Lipopeptide surfactant production by *Bacillus subtilis* grown on low-cost raw
- Singh, Shilpi & Verma, Digvijay. (2021). Morphological and Pharmacognostical Evaluation of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae): A Plant with High Medicinal Value in Tropical and Subtropical Parts of the World. Pharmacognosy Reviews. 14. 138-145. 10.5530/phrev.2020.14.17.
- Villalobos, A., Calderón, L., Figueroa, C., Fierro, J. G., Otálora, R., Álvarez, B. (2007). Evaluación por método ecométrico de agar obtenido de algas rojas colombianas. Universitas Scientiarum, 12 (III): 57-65.