



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN AGRONOMÍA PARA
LA PRODUCCIÓN SUSTENTABLE**

TESIS

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE
ESENCIAL DE CLAVO (*Syzygium aromaticum*)
SOBRE BACTERIAS FITOPATOGENAS**

Para obtener el título de

**Ingeniería en Agronomía para la Producción
Sustentable**

PRESENTA

Mara García Lugo

Director

Dr. Oscar Arce Cervantes

Codirectora

Dra. Nallely Rivero Pérez

Asesores

Dr. Adrian Zaragoza Bastida

Mtra. Ana Lizet Morales Ubaldo

Dr. Benito Flores Chávez

Tulancingo de Bravo, Hidalgo., octubre 2024



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

TESIS

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE
ESENCIAL DE CLAVO (*Syzygium aromaticum*)
SOBRE BACTERIAS FITOPATOGENAS**

Para obtener el título de

**Ingeniería en Agronomía para la Producción
Sustentable**

PRESENTA

Mara García Lugo

Director

Dr. Oscar Arce Cervantes

Codirectora

Dra. Nallely Rivero Pérez

Asesores

Dr. Adrian Zaragoza Bastida

Mtra. Ana Lizet Morales Ubaldo

Dr. Benito Flores Chávez

ACTAS

Tulancingo de Bravo, Hidalgo., a 03 de octubre de 2024
Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar de la UAEH

Por este conducto y con fundamento en el Título Cuarto, Capítulo I, Artículo 40 del Reglamento de Titulación, le comunico que el jurado que le fue asignado al pasante de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía para la Producción Sustentable **Mara García Lugo**, quien presenta el trabajo de Tesis denominado “**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE CLAVO (*Syzygium aromaticum*) SOBRE BACTERIAS FITOPATÓGENAS**”, que después de revisarlo en reunión de sinodales, ha decidido autorizar la impresión de este, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, se anotan las firmas de conformidad de los miembros del jurado:

PRESIDENTE

DR. ADRIAN ZARAGOZA BASTIDA

SECRETARIO

DR. OSCAR ARCE CERVANTES

VOCAL 1

DRA. NALLELY RIVERO PEREZ

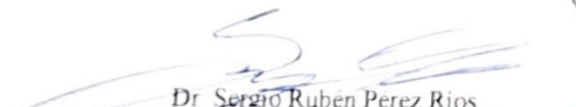
SUPLENTE 1

DR. BENITO FLORES CHÁVEZ



Sin otro particular por el momento, me despido de usted.

Atentamente
“Amor, Orden y Progreso”



Dr. Sergio Rubén Pérez Ríos
Coordinador de Ingeniería en
Agronomía para la Producción
Sustentable



AGRADECIMIENTOS

A mi madre y padre por su apoyo incondicional, por siempre alentarme a ser una mejor profesionalista, por darme todos los recursos necesarios y dar todo a mi educación.

A mi hermano por siempre estar conmigo y acompañarme en todas las etapas de mi vida,

A la doctora Nallely Rivero por su guía en esta investigación, conocimientos, tiempo, apoyo y paciencia; mi admiración total a su trabajo y persona.

A la doctora Lizet Ubaldo por su apoyo y conocimientos en laboratorio.

Al doctor Arce por su apoyo.

A mis compañeros de laboratorio por su ayuda.

DEDICATORIAS

A mis padres y hermano:

Quiero que sepan que el objetivo logrado también es suyo, y que en esta vida aparte de profesionalista quiero ser una gran persona como lo que son ustedes, porque mejor ejemplo no pude haber tenido.

Reciban esta dedicatoria de mi parte, dándoles la gratitud por su apoyo, cariño y guía en mi formación profesional.

INDICE GENERAL

1.	GLOSARIO DE TÉRMINOS	viii
2.	INDICE DE FIGURAS	ix
3.	RESUMEN	x
4.	ABSTRACT	xi
5.	INTRODUCCIÓN.....	12
6.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
7.	ANTECEDENTES	15
7.1	Sector agrícola en México	15
7.2	Factores que afectan a la producción agrícola.....	16
7.2.1	Factores abióticos.....	17
7.2.2	Factores bióticos.....	17
7.3	Tratamientos convencionales utilizados en el control de bacterias fitopatógenas.....	20
7.4	Alternativas de control y tratamiento frente a infecciones por bacterias fitopatógenas	21
7.5	Aceite esencial de clavo como alternativa de prevención o tratamiento.....	22
8.	JUSTIFICACIÓN.....	24
9.	OBJETIVOS.....	25
9.1	Objetivo general	25
9.2	Objetivos específicos	25
10.	HIPÓTESIS	26
11.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
11.1.	Obtención del aceite esencial de clavo (<i>Syzygium aromaticum</i>)	27
11.2.	Material biológico.....	27
11.3.	Prueba de esterilidad.....	27
11.4.	Reactivación de las cepas bacterianas	27
11.5.	Preparación del inóculo.....	27
11.6.	Actividad antibacteriana.....	28
11.7.	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	28
11.8.	Concentración Mínima Bactericida (CMB)	28
11.9.	Análisis estadístico.....	28
12.	RESULTADOS	29

13.	DISCUSIÓN.....	31
14.	CONCLUSIÓN	34
15.	PERSPECTIVA.....	34
16.	REFENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Término	Significado
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
CMB	Concentración Mínima Bactericida
CLSI	Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico (por sus siglas en inglés Clinical and Laboratory Standards Institute)
UFCs	Unidades formadoras de colonias

2. INDICE DE FIGURAS

Ilustración 1: Tinción de Gram de las bacterias fitopatógenas	29
Ilustración 2: Actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo (<i>Syzygium aromaticum</i>) sobre bacterias fitopatógenas.....	30

3. RESUMEN

La producción agrícola en México y el mundo se va afectada por factores bióticos y abióticos que dañan la calidad y cantidad de productos obtenidos, lo cual genera un impacto negativo en la disposición de alimento por parte de la población y a nivel económico, para controlar los factores bióticos asociados con la presencia de bacterias fitopatógenas, se han utilizado agroquímicos y otros productos para prevenir y controlar los efectos negativos generados por este tipo de patógenos; sin embargo, su uso extensivo ha generado un impacto negativo en el medio ambiente, en las poblaciones bacterianas patógenas y no patógenas e incluso se ha asociado con algunas enfermedades en seres humanos. Debido a esta problemática, se buscan alternativas que generen menos efectos negativos, como los productos obtenidos a partir de plantas como los extractos y aceites esenciales ricos en metabolitos secundarios con potencial actividad antibacteriana; por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) evaluado a concentraciones de 0.156 a 20 mg/mL sobre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris* determinando su Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), Mínima Bactericida (CMB) y la relación CMB/CMI. Los resultados obtenidos evidencian la actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo sobre los tres fitopatógenos, presentando una CMI de 0.312 sobre *Clavibacter michiganensis* y 0.156 con *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, mientras que la CMB, se determinó a 0.625 mg/mL sobre *Clavibacter michiganensis* y 0.312 mg/mL para *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, además de determinarse una actividad bactericida sobre las tres bacterias fitopatógenas. Por lo que, se puede concluir que el aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) es un potencial antibacteriano de uso agrícola, sin embargo, es necesario realizar evaluaciones *in situ*.

Palabras clave: aceite esencial, *Syzygium aromaticum*, bactericida, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris*

4. ABSTRACT

Agricultural production in Mexico and the world is affected by biotic and abiotic factors that damage the quality and quantity of the products obtained, this situation has a negative impact in the availability of food by the population and at economic level. To control the biotic factors associated with the presence of phytopathogenic bacteria, agrochemicals and other products have been used to prevent and control the negative effects generated by this type of pathogens; however, its extensive use has had a negative impact on the environment, on pathogenic and non-pathogenic bacterial populations and has even been associated with some diseases in humans. Derived from these problems, alternatives are being sought that have fewer negative effects, as products obtained from plants such as extracts and essential oils rich in secondary metabolites with potential antibacterial activity; Therefore, the aim of the present study was to determine the antibacterial activity of clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) evaluated at concentrations of 0.156 to 20 mg/mL on *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* and *Xanthomonas campestris*, determining their Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and the MBC/MIC ratio. The results obtained show the antibacterial activity of clove essential oil on the three phytopathogens, presenting a MIC of 0.312 on *Clavibacter michiganensis* and 0.156 for *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, while the CMB was determined at 0.625 mg / mL against *Clavibacter michiganensis* and 0.312 mg / mL over *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, in addition was determined a bactericidal activity on the three phytopathogenic bacteria. Therefore, it can be concluded that clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) is a potential antibacterial for agricultural use, however, it's necessary to carry out on-site evaluations.

Keywords: essential oil, *Syzygium aromaticum*, bactericidal, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris*

5. INTRODUCCIÓN

La agricultura es una actividad de gran relevancia, para el desarrollo económico y contribuye con el 80% de los alimentos que se consumen a nivel mundial, sin embargo la producción agrícola se ve afectada por enfermedades infecciosas ocasionadas por hongos, bacterias, virus, nematodo e insectos (INECOL, 2022). La infección de las plantas por microorganismos alteran su funcionamiento fisiológico normal y reducen la cantidad y calidad de las cosechas, lo cual genera pérdidas económicas y un impacto ecológico y social negativo (SIAP, 2016, Jiménez, 2017).

Xanthomona campestris, *Pseudomonas syringae*, *Clavibacter michiganensis* son ejemplos de fitopatógenos bacterianos que afectan los cultivos agrícolas; *Xanthomona campestris* es responsable de más del 50% de las pérdidas de rendimiento en hortalizas crucíferas. Los síntomas característicos en las plantas son lesiones amarillentas de aspecto seco en forma de "V", necrosis del tejido de la hoja y en casos severos, caída parcial o total de las hojas, que culmina con la muerte de la planta (Conceição et al., 2023).

Pseudomonas syringae es un bacilo de distribución mundial que afecta hojas de *Nicotiana tabacum*, *Phaseolus vulgaris* y *Glycine max*, provocando pérdidas económicas (Guangjin et al., 2023). *Pseudomonas syringae* es responsable del tizón en plantas de *Phaseolus vulgaris* (frijol), *Lactuca sativa* (lechuga), *Avena sativa* (avena), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Oryza sativa* (arroz), entre otras (Sotelo et al., 2023). *Clavibacter michiganensis*, es causante del cancro bacteriano en el tejido vascular y superficial en la planta de tomate, generando pérdidas entre 20 a 100 toneladas por hectárea (70 % al 100% del cultivo), por lo que es una enfermedad limitante en zonas productoras de *Solanum lycopersicum* (tomate), tanto en campo abierto como en invernaderos (Méndez, 2019).

Debido al impacto negativo de los patógenos bacterianos anteriormente descritos se han utilizado productos químicos como Kasuminin, Param, Betanol e hidróxido de cobre, como estrategia de prevención y control de *Clavibacter michiganensis* (Méndez, 2019). En el caso de *Xanthomona campestris* se utilizan bactericidas como Mancozeb, Zineb o Terramicina (Ajayasree et al., 2018). Y sobre *Pseudomonas syringae*, hidróxido de cobre o acibenzolar-S-metilo (Monchiero et al., 2014), sin embargo, algunos de estos tratamientos son inespecífico.

La falta de tratamientos específicos para tratar enfermedades de origen bacteriano hace necesario el uso de otras estrategias preventivas como: la rotación de cultivos, el uso de cultivares resistentes, la eliminación de residuos de cultivos y malezas y agentes químicos, el uso excesivo de agentes químicos sintéticos ha contribuido al desarrollo de bacterias resistentes es estos productos. Además, la aplicación continua de compuestos de compuestos como el cobre en el medio ambiente causa contaminación del suelo y agua (Montoya et al., 2013, Ibarra et al., 2019, Conceição et al., 2023).

El daño potencial que pueden generar algunos productos de origen químico han estimulado la búsqueda de alternativas funcionales, amigables con el medio ambiente y con pocos o nulos efectos sobre la salud humana (Sotelo et al., 2023, Torres y Capote, 2004). En este sentido, los aceites esenciales de plantas aromáticas se presentan como una posible solución a los tratamientos convencionales, ya que han demostrado propiedades insecticidas, antifúngicas, antiprotozoales, antioxidantes, antibacterianas, entre otras, tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo* (Acero, 2023, Al-Mijalli et al., 2023).

El clavo (*Syzygium aromaticum*), representa una de las fuentes más ricas de compuestos fenólicos como el eugenol, acetato de eugenol, ácido gálico y posee un gran potencial para aplicaciones farmacéuticas, cosméticas, alimentarias y agrícolas (Cortés et al., 2014).

Estudios previos han demostrado que el aceite esencial de clavo debido a su composición fitoquímica posee una potencial actividad antibacteriana sobre patógenos de importancia en medicina veterinaria (Selles et al., 2020) y agrícola que infectan frutales (Doukkali et al., 2021), brassicas, solanáceas, etc. (Popović et al., 2018),

Considerando lo anteriormente expuesto el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Pseudomonas syringae*, *Xanthomona campestris* y *Clavibacter michiganensis*, *in vitro*.

6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La agricultura es una actividad de gran relevancia, ya que permite producir alimentos para el consumo humanos y animal, con el crecimiento de la población la demanda de dichos alimentos ha incrementado de forma alarmante y exponencial, lo cual genera problemas de hambruna, que sumandos al cambio climático y la contaminación del agua, suelo y aire genera desbaste de alimentos. Por otro lado, los alimentos de origen vegetal que se producen deben cumplir con ciertas características que garanticen su inocuidad y seguridad alimentaria y además deben producirse con el menor impacto ambiental.

En torno a la producción agrícola gravitan factores que influyen de forma negativa en la producción de alimentos en cantidad y calidad suficiente, como las enfermedades infecciosas, las cuales representa una amenaza muy importante en la soberanía y seguridad alimentaria ya que, pueden reducir la producción agrícola mundial entre un 20 % y un 40 %; es decir casi de la mitad de producción agrícola mundial; razón por la cual se ha realizado un uso indiscriminado de agroquímicos para reducir las pérdidas del cultivo y económicos.

Los agroquímicos utilizados con fines terapéuticos o de control de enfermedades, han afectado el suelo agrícola, cuerpos de agua, el medio ambiente, la salud humana e incluso ha estimulado la aparición de microorganismos resistentes a fármacos, lo que conlleva a buscar nuevos productos alternativos, con mejor y mayor eficacia, menor impacto ambiental y que garanticen la inocuidad de los alimentos producidos.

Los productos obtenidos a partir de plantas como los extractos de plantas y los aceites esenciales por su contenido de metabolitos secundarios se han perfilado como una excelente opción terapéutica y de control de algunas enfermedades causadas por virus, hongos y bacterias en cultivos agrícolas ya que presentan potencial actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana, entre otras.

El aceite esencial obtenido a partir de clavo (*Syzygium aromaticum*) ha sido evaluado sobre bacterias que afectan la salud humana y animal con buenos efectos bactericidas y bacteriostáticos, por lo que es altamente probable que presente efecto antibacteriano sobre *Clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis*, *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris* patógenos bacterianos que afectan la producción de algunos cultivos agrícolas.

7. ANTECEDENTES

7.1 Sector agrícola en México

El sector agropecuario es clave para el desarrollo rural de cualquier país. Contribuye a reducir la desigualdad económica y social y es fundamental para la seguridad alimentaria. En México, el sector representa alrededor del 3.5% del PIB y el 13% del empleo total en el país (Robles-Chávez & Nuñez, 2023).

La producción agrícola se puede dividir en 4 etapas. El primer paso es la siembra, que implica la preparación del suelo, la siembra, así como el crecimiento y el mantenimiento del cultivo específico (por ejemplo, eliminación de malezas y riego). El siguiente paso es la cosecha, que es la separación de la planta madre de la porción vegetal de interés comercial. Posteriormente, el producto cosechado debe almacenarse antes del transporte. Finalmente, los cultivos se transfieren de la granja a la industria de procesamiento y fabricación, o al minorista o consumidor final (López-Sánchez, 2021).

Las tierras agrícolas proporcionan la mayor parte de los suministros de alimentos y garantizan un número esencial de servicios ecosistémicos (por ejemplo, proporcionar alimentos, combustible, fibra). Principalmente, las tierras agrícolas aportan (directa o indirectamente) aproximadamente el 90% de las calorías de los alimentos y el 80% de las proteínas y grasas (producción ganadera). Por lo tanto, las áreas agrícolas apoyan la seguridad alimentaria (Viana et al., 2022).

México es un país importador neto. La mayor cantidad de alimentos importados es maíz, con 15 millones de toneladas en 2019. La mayor parte es maíz amarillo, que se utiliza principalmente como alimento para animales y para la industria alimentaria. Además, México es un importante exportador de alimentos, en 2019 fue el 7º mayor exportador de productos agrícolas, siendo la cerveza, el aguacate, las bayas y el tomate los de mayor valor económico (Ibarrola-Rivas et al., 2022).

Los sistemas agrícolas representan la tercera fuente neta más grande de emisiones de gases de efecto de invernadero a nivel nacional; México ocupa el puesto 11 a nivel mundial en producción de alimentos y cultivos; los suelos utilizados para actividades agrícolas ocupan más de la mitad del territorio nacional, sin embargo, alrededor del 64% de los suelos

mexicanos muestran un nivel de degradación y aproximadamente el 28% de los agricultores reportan tener problemas con la fertilidad de sus suelos; y las actividades agropecuarias son el sustento directo de 6,7 millones de personas en un entorno donde las mujeres participan no solo como jornaleras sino también como productoras o jefas de empresa del hogar (García et al., 2022).

7.2 Factores que afectan a la producción agrícola

Los principales factores que influyen en la pérdida de alimentos en la fase de precosecha son externos, como las condiciones climáticas y las enfermedades (López-Sánchez, 2021).

La percepción errónea de que el agua es inagotable socava su importancia vital para toda la vida. Los porcentajes simples transmiten la insostenibilidad del consumo de agua en la agricultura. Aproximadamente el 70% de la extracción mundial de agua subterránea está relacionada de alguna manera con la agricultura (Ortiz-Carrión, 2022).

México ha experimentado una fuerte contaminación de sus recursos hídricos debido al incremento industrial y demográfico durante los últimos años. Los ríos y otros cuerpos de agua superficiales se han visto afectados por diversas fuentes, como las descargas de aguas residuales urbanas e industriales no tratadas o mal tratadas, el mal manejo de los residuos sólidos y el uso de aguas residuales crudas para el riego de tierras de cultivo (Dueñas-Moreno et al., 2024).

El uso excesivo y la eliminación inadecuada de insumos químicos en la producción agrícola provocaron un gran número de contaminación de fuentes no localizadas y emisiones de carbono (Li et al., 2020).

Los ataques de ellas en los cultivos agrícolas pueden reducir significativamente las cosechas y tener un importante negativo impacto económico sobre la producción agrícola, que son consecuencia del malfuncionamiento fisiológico que originan (Jimenez, 2017).

Los brotes de enfermedades de las plantas representan una amenaza importante para la seguridad alimentaria mundial y la sostenibilidad agrícola, ya que las infecciones patógenas pueden reducir la producción agrícola mundial entre un 20 % y un 40 %. Las enfermedades de las plantas iniciadas por fitopatógenos dañan los cultivos, afectando a la producción mundial, causando importantes pérdidas de rendimiento por valor de miles de millones de dólares e impidiendo la alimentación adecuada de 800 millones de personas. Las

enfermedades de las plantas mediadas por bacterias amenazan constantemente las economías agrícolas (Omran et al., 2024).

7.2.1 Factores abióticos

Los componentes abióticos y abióticos son partes químicas y físicas no vivas del medio ambiente que afectan a los organismos vivos y al funcionamiento de los ecosistemas (Sánchez, 2019). La agricultura mundial se enfrenta a la ira de las tensiones climáticas, que afectan significativamente a la producción y la demanda mundial de alimentos. Las condiciones climáticas mundiales en continuo cambio que conducen a extremos climáticos prolongados como inundaciones y sequías, precipitaciones extremas, fluctuaciones bruscas de temperatura, salinización del suelo, degradación de la tierra y disminución de la fertilidad del suelo, compactación del suelo, disminución de la diversidad microbiana, guerra y situaciones similares a la guerra plantean importantes penalizaciones de rendimiento en la agricultura mundial y, por lo tanto, ponen en riesgo la seguridad alimentaria. Aproximadamente, el 90% de la tierra cultivable está en alto riesgo debido a uno o más estreses abióticos. Los estreses abióticos tienen un potencial significativo para causar una pérdida de rendimiento de 51%-82% en los principales cultivos alimentarios de la agricultura mundial (Nehra et al., 2024).

7.2.2 Factores bióticos

El estrés biológico se refiere a los efectos adversos en las plantas causados por organismos vivos como hongos, virus, bacterias, nematodos e insectos. Estos factores estresantes pueden provocar enfermedades, infecciones y daños a los cultivos, lo que resulta en pérdidas de rendimiento. Estos microorganismos pueden infectar las plantas y causar una serie de síntomas, como clorosis, retraso en el crecimiento, pudrición y lesiones. Las infecciones por múltiples patógenos juntos suelen dar lugar a síntomas de enfermedad más graves que las infecciones individuales. El mecanismo implica la invasión y colonización de los tejidos vegetales, lo que lleva a la interrupción de los procesos celulares y la absorción de nutrientes (Zain et al., 2023).

7.2.2.1 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Clavibacter michiganensis es una bacteria Gram positiva, aerobia, no formadora de esporas, transmitida por semillas, que causa varias enfermedades en cultivos agrícolas de importancia económica, como el tomate (*Solanum lycopersicum*), el trigo (*Triticum aestivum*), el maíz (*Zea mays*), la papa (*Solanum tuberosum*), lo que resulta en importantes pérdidas económicas mundiales. *Clavibacter michiganensis* constituye una sola especie con nueve subespecies, una de ellas *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Las pérdidas de producción de tomate en invernaderos y campos son significativas en todo el mundo debido a las infecciones con *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, que causa pérdidas catastróficas en múltiples plantaciones de tomate (Omran et al., 2024). El patógeno es transmitido por semillas en la naturaleza. La siembra de semillas infectadas con la bacteria puede reducir la germinación, el vigor y el rendimiento. Las semillas contaminadas juegan un papel prominente en la dispersión a larga distancia del inóculo y la contaminación de áreas previamente libres de enfermedad se considera uno de los efectos más adversos de la bacteria transmitida por la semilla. La bacteria, incluso a niveles muy bajos de inóculo, puede conducir a una incidencia de campo extremadamente alta cuando el clima es propicio para el desarrollo de la enfermedad. Una alta población de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* también puede estar presente en plántulas de tomate completamente asintomáticas, lo que eventualmente conduce a la infección de las otras plantas. La entrada de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* generalmente ocurre a través de una fuente de semilla infestada en una nueva área o por medio de trasplantes de tomate portadores de infección latente (Tripathi et al., 2022).

El manejo de la enfermedad es un desafío debido a la falta de semillas disponibles comercialmente que sean resistentes a *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. En la actualidad, el control depende de estrictas medidas preventivas para reducir el riesgo de propagación y nuevos brotes. Los métodos más comunes para controlar las infecciones por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* incluyen la aplicación de diversos pesticidas sintéticos y antibióticos (Omran et al., 2024). Actualmente se han utilizado productos químicos contra *Clavibacter michiganensis* para su prevención y control, como

Kasuminin, Param, Betanol e hidróxido de cobre, pero son productos preventivos mas no la erradica por completo (Méndez, 2019).

7.2.2.2 *Pseudomonas syringae*

Pseudomonas hoy en día es el género bacteriano que contiene el mayor número de especies (> 250) entre las bacterias Gram negativas (Fodil et al., 2024). *Pseudomonas syringae* es una bacteria gramnegativa que pertenece a la familia Pseudomonadaceae. Esta bacteria es ubicua en la naturaleza y se sabe que causa enfermedades en varias especies de plantas, incluidos árboles, verduras y frutas (Kim et al., 2023).

Pseudomonas syringae se encuentra entre los diez principales fitopatógenos, causando diversas enfermedades de las hojas al entrar en heridas o aberturas naturales como las estomas (Yang et al., 2024). *Pseudomonas syringae* es un patógeno gramnegativo altamente prevalente con más de 60 variantes patógenas que causan pérdidas de rendimiento de hasta el 80% en varios cultivos. Se ha descubierto que *Pseudomonas syringae* infecta más de 300 cultivos, entre ellos legumbres, maíz y tomates. Se trata de un grupo de microorganismos altamente adaptable desde el punto de vista ecológico que ocupa el primer lugar entre las enfermedades bacterianas de las plantas en términos de incidencia, lo que provoca enfermedades devastadoras de las plantas y enormes pérdidas económicas en todo el mundo (He et al., 2023).

El campo actual del control de *Pseudomonas syringae* depende en gran medida de formulaciones de cobre (por ejemplo, sulfato de cobre) y antibióticos (por ejemplo, estreptomycin), mientras que el uso a largo plazo de estos agentes presenta problemas de fitotoxicidad y resistencia en el patógeno (Yang et al., 2024).

7.2.2.3 *Xanthomonas campestris*

Xanthomona campestris son bacterias Gram negativas y anaerobias obligadas que tienen una forma baciliforme y un solo flagelo polar. En medio de cultivo, su crecimiento es liso, viscoso y de color amarillento. Este fitopatógeno está muy extendido y provoca una reducción de la calidad del producto; por sí sola es responsable de más del 50% de las pérdidas de rendimiento de las crucíferas y compromete principalmente la parte aérea de plantas de la familia *Brassicaceae*. Los síntomas característicos son lesiones amarillentas de aspecto seco en forma de "V", necrosis del tejido de la hoja

y en casos más severos, se produce la caída parcial o total de las hojas, que culmina con la muerte de la planta (Conceição et al., 2023).

Es la enfermedad más crítica para las plantas de la familia *Brassicaceae* que provoca graves pérdidas de rendimiento en todo el mundo. Las bacterias penetran en la planta huésped a través de heridas o hidatodos de la hoja (Dilvar et al., 2023).

7.3 Tratamientos convencionales utilizados en el control de bacterias fitopatógenas

Las enfermedades bacterianas generan importantes pérdidas económicas en la producción de cultivos, frutas y hortalizas a nivel mundial. En la actualidad, las principales medidas para controlar las enfermedades bacterianas incluyen antibióticos agrícolas y preparaciones de cobre. Como consecuencia no deseada, las preparaciones de cobre pueden acumularse en el medio ambiente y causar contaminación, mientras que la resistencia a los antibióticos se está convirtiendo en un problema cada vez más grave para la industria agrícola. Los antibióticos tradicionales que se dirigen a los factores de crecimiento y supervivencia de los patógenos imponen fuertes presiones de selección sobre las bacterias patógenas, lo que perpetúa la resistencia a los medicamentos (He et al., 2023). Emna et al. aislaron 43 cepas de *Pseudomonas syringae* de huertos tunecinos y encontraron que el 67% eran resistentes al sulfato de cobre, el 23% albergaba los genes de resistencia al cobre copABC_{DR} (Yang et al., 2024).

El uso indiscriminado de productos químicos suele ser ineficaz debido a varios factores. En primer lugar, los patógenos bacterianos pueden sobrevivir durante períodos prolongados a pesar del uso de antibióticos. En segundo lugar, el desarrollo de resistencia a los patógenos puede hacer que los antibióticos sean ineficaces. Por último, el uso de antibióticos químicos puede tener un impacto negativo en la microbiota del suelo, el medio ambiente y la salud humana, lo que conduce a la degradación del suelo y a la eutrofización del agua. Sin embargo, el manejo efectivo es un desafío porque los cambios constantes en las poblaciones bacterianas y la aparición de nuevas cepas bacterianas pueden comprometer la durabilidad de cualquier estrategia de control. El aumento del escrutinio de los impactos de los antibióticos tanto en los seres humanos como en el medio ambiente enfatiza la

necesidad urgente de agentes de control alternativos a largo plazo, sostenibles, accesibles para los agricultores y respetuosos con el medio ambiente (Omran et al., 2024).

El sulfato de cobre (CuSO_4) se utiliza con frecuencia en las prácticas de agricultura ecológica como fungicida, especialmente cuando no se dispone de alternativas validadas o son menos rentables. Sin embargo, el sulfato de cobre es tóxico para los organismos vivos (incluidos los seres humanos y los animales; tiene el potencial de contaminar gravemente el suelo, ya que se pulveriza como solución acuosa sobre las hojas de las plantas y se dispersa en pastizales y sistemas fluviales adyacentes (Pardo et al., 2024).

El antibiótico aminoglucósido estreptomina se ha utilizado ampliamente para el tratamiento de algunas enfermedades bacterianas de los cultivos, es el pesticida más recomendado a nivel mundial para el tratamiento de enfermedades bacterianas de los cultivos. En algunos suelos, la estreptomina se une fuertemente a las partículas minerales cargadas negativamente, lo que limita su disponibilidad para la biodegradación. Se estima que las infecciones resistentes a los antimicrobianos (RAM) están asociadas a la muerte de unos cinco millones de personas al año. Al ritmo actual de desarrollo de la resistencia a los antimicrobianos, se espera que las infecciones intratables superen al cáncer como principal causa de morbilidad humana para 2050. En consonancia con esta preocupación está el desarrollo de resistencia por parte de las bacterias fitopatógenas tras el uso repetido de plaguicidas antibióticos. En consonancia con esta preocupación está el desarrollo de resistencia por parte de las bacterias fitopatógenas tras el uso de antibióticos (Demars et al., 2024).

7.4 Alternativas de control y tratamiento frente a infecciones por bacterias fitopatógenas

La terapia fotodinámica se ha utilizado como estrategia contra una amplia gama de microorganismos, ofreciendo varias ventajas sobre los antimicrobianos convencionales. Este método genera especies reactivas de oxígeno capaces de atacar simultáneamente múltiples sitios en las bacterias. Además, la acción fotodinámica es muy rápida, matando las bacterias en minutos, mientras que los medicamentos antibacterianos convencionales pueden tardar horas o días en hacer efecto. Esta acción rápida y los múltiples sitios de

ataque reducen la posibilidad de que las bacterias desarrollen resistencia (Wang et al., 2024).

El biocontrol se refiere a los organismos beneficiosos añadidos exógenamente y/o sus productos para limitar la propagación de patógenos de plantas. Por lo general, aumenta la diversidad de la microbiota y la abundancia relativa de bacterias beneficiosas. Actualmente, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Pantoea spp.* se utilizan como agentes de biocontrol para *Pseudomonas syringae* (Yang et al., 2024).

Trichoderma se emplea de manera integral como agente de biocontrol para el control de patógenos en el sector agrícola. *Trichoderma sp.* actúa como agentes de biocontrol frente a diferentes fitopatógenos ya sea por mecanismos indirectos o directos (Konappa et al., 2022). La nanotecnología es un nuevo campo emergente para controlar las pérdidas de cultivos y las enfermedades de las plantas mediante el uso de nanopartículas recubiertas con extractos de plantas. Las nanopartículas muestran características químicas, físicas y biológicas distintivas a nanoescala, a diferencia de sus escalas de tamaño a granel (Muraisi et al., 2022), sin embargo, la estrategia de química verde para sintetizar nanopartículas metálicas se compone de técnicas seguras y económicas. A diferencia de los pesticidas químicos, las nanopartículas de plata sintetizadas verdes son ecológicas, menos costosas y más eficaces contra los patógenos de las plantas. La plata tiene fuertes actividades antifúngicas y antibacterianas, por lo que se supone que es el metal más ideal, entre otros metales, para usar en la biosíntesis de nanopartículas. (Dilvar et al., 2023).

Los aceites esenciales exhiben una actividad antibacteriana excepcional y pueden explotarse como una bioestrategia prometedora para controlar la patogenicidad bacteriana (Cortés et al., 2014).

7.5 Aceite esencial de clavo como alternativa de prevención o tratamiento

Los aceites esenciales son compuestos aromáticos que se obtienen de diferentes partes de las plantas (flores, semillas y hojas). Estos productos naturales se utilizan en muchos campos, como la producción de perfumes y cosméticos, la aromaterapia, la fitoterapia, la producción de medicina alternativa y la industria alimentaria. Tienen sustancias bioactivas que tienen fuertes actividades antioxidantes y antimicrobianas (Özdikicierler & Ergönül, 2022).

El clavo (*Syzygium aromaticum*) originario de Indonesia, representa una de las fuentes más ricas de compuestos fenólicos como el eugenol, el acetato de eugenol y el ácido gálico y posee un gran potencial para aplicaciones farmacéuticas, cosméticas, alimentarias y agrícolas. El clavo, en particular, ha atraído la atención debido a las potentes actividades antioxidantes y antimicrobianas que se destacan entre las otras especias. (Cortés et al., 2014).

El aceite esencial de clavo, obtenido de las yemas, tallos y hojas de la planta de clavo, contiene una gran cantidad de compuestos biológicamente activos, que incluyen principalmente compuestos como el eugenol. Investigaciones recientes han demostrado que el aceite esencial de clavo tiene un efecto antiséptico significativo entre microorganismos biológicos debido a sus actividades antibacterianas, antioxidantes, antiinflamatorias y otras actividades biológicas (Xu et al., 2023).

Los estudios de los componentes de los aceites esenciales han demostrado que moléculas fenólicas como el carvacrol, el eugenol y el timol son altamente activas frente a varios microorganismos y que la actividad antimicrobiana de estos se debía a su acción sobre la membrana celular (Silva et al., 2019).

Numerosos estudios han demostrado que el aceite de clavo puede tener una actividad antibacteriana potencial contra varios patógenos de plantas. En este caso, el control de la *Erwinia spp.* de la papa se manifestó mediante la aspersion de diferentes concentraciones de aceite de clavo. El perfil de aceite de clavo exhibió eugenol (65,66 %) como componente principal. El eugenol podría disminuir la tasa de descomposición en la fruta podrida y aumentar su resistencia a la pudrición al mejorar la actividad antiproliferativa y antioxidante mediado por compuestos fenólicos, antocianinas y flavonoides. Por lo tanto, el aceite de clavo se puede utilizar como agentes antibacterianos para reducir la patogenicidad del *Erwinia spp.* (Zhang et al., 2023).

8. JUSTIFICACIÓN

En la agricultura, el control de enfermedades que afectan las plantas es crucial para asegurar la calidad y cantidad de la cosecha. Las enfermedades vegetales pueden llevar a una reducción en el rendimiento de los cultivos, afectar negativamente la economía de los agricultores y disminuir el abastecimiento al mercado. Por el cual nos lleva a recurrir al uso de agroquímicos para manejar estos problemas. Sin embargo, el mal uso de estos productos ha generado preocupaciones ambientales como la contaminación del agua y el suelo, la destrucción de flora y fauna, problemas de salud en los seres humanos y resistencia a antimicrobianos

Dado el impacto negativo del uso de agroquímicos, se ha buscado el uso de alternativas más sostenibles como el aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) como una alternativa funcional, amigable con el medio ambiente y con capacidad de producir alimentos inocuos.

La utilización del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) como alternativa a los agroquímicos se justifica por su eficiencia demostrada en la lucha contra patógenos bacterianos y su menor impacto ambiental. Esta alternativa no solo ofrece una solución práctica para el control de enfermedades, sino que también promueve prácticas agrícolas más sostenibles.

9. OBJETIVOS

9.1 Objetivo general

- Evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris* y *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, como alternativa funcional y sustentable, para el control de bacterias fitopatógenas.

9.2 Objetivos específicos

- Determinar Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Pseudomonas siringe*, *Xanthomona campestri* y *Clavibacter michiganensis* sbsp. *Michiganensis*.
- Determinar Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Pseudomonas siringe*, *Xanthomona campestri* y *Clavibacter michiganensis* sbsp. *Michiganensis*.

10.HIPÓTESIS

- El aceite esencial de clavo mostrara efecto inhibiendo el crecimiento bacteriano y/o provocando la muerte de *Pseudomonas siringe*, *Xanthomona campestri* y *Clavibacter michiganensis* sbsp. *michiganensis*, *in vitro*.

11.MATERIALES Y MÉTODOS

11.1. Obtención del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*)

La metodología que se utilizó para este procedimiento fue la técnica de arrastre de vapor con alambique (Acero, 2023). Se pesaron 250 gramos de clavo (*Syzygium aromaticum*), los cuales se pasaron con 2.5 litros de agua destilada.

11.2. Material biológico

Para la realización del presente experimento se utilizaron las siguientes cepas bacterianas *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Gram positiva). *Pseudomonas syringe* (Gram negativa) y *Xanthomona campestris* (Gram negativa),

Las bacterias fueron obtenidas del laboratorio AG en Celaya, Guanajuato, México. Fueron reactivadas de la crio conservación y sembradas en Agar Muller Hilton (BD Bioxon, Heidelberg, Germany) con la técnica de estría simple para obtener colonias aisladas, de cada una de las cepas, posteriormente se inoculo una colonia en caldo nutritivo (BD Bioxon) y se incubo por 24 horas a 26°C, para posteriormente ajustarla al 0.5 del patrón de turbidez de Mac Farland (Remel, R20421, Lenexa, KS, EE. UU).

11.3. Prueba de esterilidad

Fue determinada la esterilidad de cada tratamiento, para lo cual se tomaron 10µl de cada muestra y se inocularon en agar Mueller Hinton (BD Bioxon, Heidelberg, Germany), las cuales fueron incubadas a 37° C durante 24 horas para la detección de microorganismos presentes en la muestra. En caso de existir crecimiento de microorganismos en la zona de inoculación, se realizó una esterilización de la muestra mediante dos filtros de membrana, uno de 33 mm y el otro de 0.22µm (Millex-GV).

11.4. Reactivación de las cepas bacterianas

Cada una de las cepas bacterianas fue reactivada de la crioconservación en agar Müller-Hinton (BD Bioxon, Heidelberg, Germany), por medio de la técnica de estría simple con la finalidad de obtener colonias aisladas, se llevaron a incubación durante 24 horas a 26 ° C, posteriormente se le realizó tinción de Gram a cada una de las cepas para corroborar su morfología y pureza.

11.5. Preparación del inóculo

Una vez confirmada la pureza de cada bacteria, se inoculó una colonia de cada cepa en caldo nutritivo (BD Bioxon, Heidelberg, Germany), el cual fue incubado en agitación constante (70rpm) durante 24

horas a 26°C. Trascurrido el tiempo de incubación, el inóculo se ajustó con caldo nutritivo al 0.5 del patrón de turbidez de McFarland (Remel, R20421, Lenexa, KS, USA), el cual corresponde a 150×10^6 cel/mL.

11.6. Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) fue determinada a través de la Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida, como control positivo se empleó Kanamicina (AppliChem 4K10421, Darmstadt, Germany) y como negativo caldo nutritivo (BD Bioxon) (CLSI, 2012).

11.7. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

En placas de 96 pozos, se realizó la técnica de micro dilución en placa, la cual consistió en colocar 100 μ l del aceite esencial a 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 y 0.156 mg/mL, diluido en Tween (Thermo Scientific™ 28230) al 0.5%, más 10 μ l de la bacteria ajustada al 0.5 del patrón de Mac Farland (Remel, R20421, Lenexa, KS, EE. UU), posteriormente la placa fue incubada a 26°C por 24 horas. Trascurrido el tiempo de incubación se agregaron 20 μ L de p-yodonitrotetrazolio (Sigma-Aldrich I8377, St. Louis, MO, USA.) al 0.04% (p/v) en cada pocillo para posteriormente incubar la placa durante 30 minutos. La CMI (concentración mínima a la cual el aceite esencial inhibe el crecimiento bacteriano) se determinó, como la concentración en la cual el medio que viro a color rosado (González-Alamilla et al., 2020).

11.8. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Después de la incubación y antes de agregar p-yodonitrotetrazolio (Sigma-Aldrich I8377, St. Louis, MO, USA.), 5 μ L de cada pocillo se inocularon en agar Muller Hilton (BD Bioxon, Heidelberg, Germany) y se incubaron a 26 °C durante 24 h. La CMB (concentración a la cual es aceite esencial provocó la muerte del 99.9% de las bacterias presentes en el inóculo bacteriano) se consideró como la concentración más baja del aceite en la cual no se observó crecimiento de colonias bacterianas (Olmedo-Juárez et al., 2019).

11.9. Análisis estadístico

Los resultados de CMI y CMB se normalizaron utilizando log₁₀ y se analizaron en un diseño completamente al azar mediante ANOVA utilizando el modelo general lineal (GLM). Las diferencias entre las medias se determinaron mediante una comparación múltiple de medias de Tukey, a un nivel de significancia de $p \leq 0.05$ en el programa SAS, V9.0. (SAS, 2010).

12.RESULTADOS

Con el objetivo de determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo se determinó su Concentración Mínima Inhibitoria y Mínima Bactericida, sobre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* y *Xanthomona campestris* (Ilustración 1)

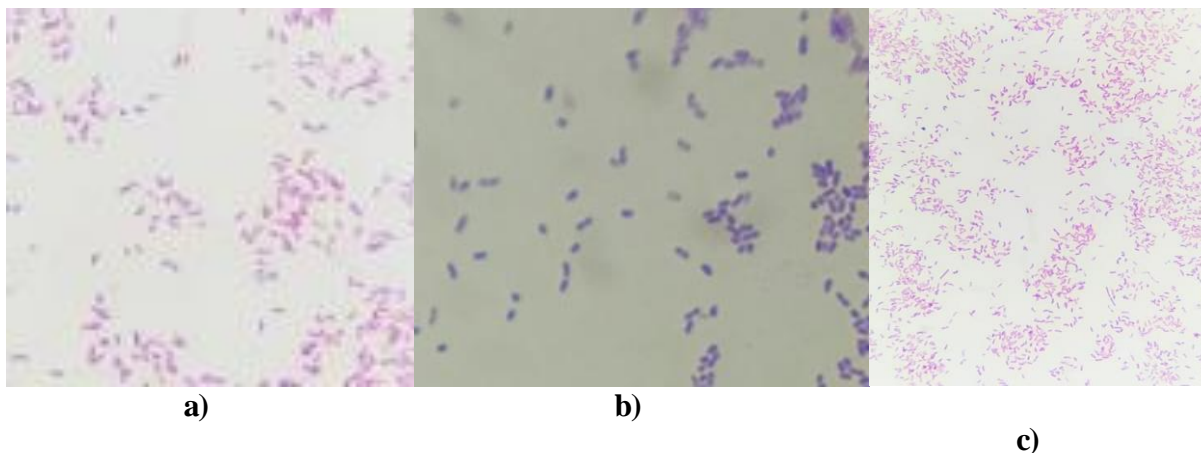


Ilustración 1: Tinción de Gram de las bacterias fitopatógenas

a) *Xanthomonas campestris*. b) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. c) *Pseudomonas syringae*.

Para determinar la CMI se realizó la técnica de microdilución en placa, por medio de la cual se observó que la CMI, para el caso de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* se encuentra a 0.312 mg/mL mientras que para las bacterias *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris* está a 0.156 mg/mL (Tabla 1, Ilustración 2a).

Respecto a la determinación de la CMB para *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* fue de 0.62 mg/mL y para las bacterias *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris* fue de 0.312 mg/mL (Tabla 1, Ilustración 2b).

Al calcular la relación de CMB/CMI, que permite determinar efectos bactericidas o bacteriostáticos, el aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) tuvo efecto bactericida contra *Pseudomonas syringae*, *Xanthomona campestris* y *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ya que el resultado fue de 2 para las tres cepas (Tabla 1).

Tabla 1. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* sobre algunos géneros de bacterias fitopatógenas.

Bacteria	CMI mg/mL	CMB mg/mL	Relación CMB/CMI
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	0.312 ^b	0.625 ^b	2
<i>Pseudomonas syringae</i>	0.156 ^a	0.312 ^a	2
<i>Xanthomonas campestris</i>	0.156 ^a	0.312 ^a	2
Valor de P	0.001	0.001	NA

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria, CMB: Concentración Mínima Bactericida, NA: No aplica. ^{a,b} Diferentes literales dentro de la misma columna, indican diferencias estadísticas significativas entre cepas bacterianas. Mínima Inhibitoria, CMB: Concentración Mínima Bactericida, NA: No aplica

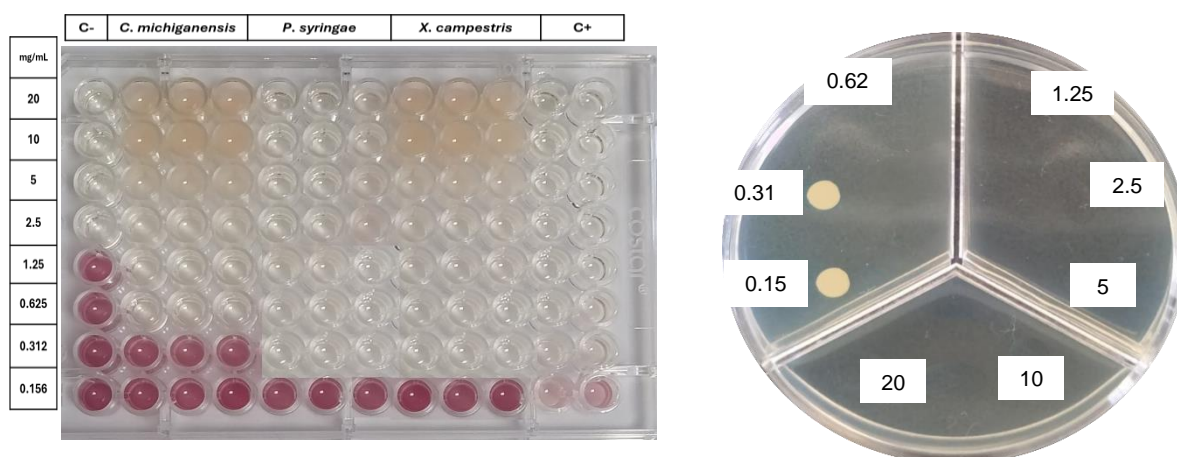


Ilustración 2: Actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) sobre bacterias fitopatógenas.

a) CMI del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*

b) CMB del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*

a) CMI del aceite sobre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringe*, *Xanthomona campestris*, C-: Control negativo, C+: Control positivo, b) CMB del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) en mg/mL, sobre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

13.DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio corroboran la actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo sobre las bacterias fitopatógenas *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringe* y *Xanthomona campestris*, además permitieron determinar las concentraciones mínimas necesarias para que el aceite inhiba el crecimiento bacteriano (potencial bacteriostático) o provoque la muerte de estas bacterias (efecto bactericida).

En lo referente a las bacterias empleadas en el presente experimento, en un estudio realizado por Morales-Ubaldo en 2021, se demostró mediante la técnica de difusión en disco que *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* presentó resistencia a trece de los dieciocho antimicrobianos a los cuales fue expuesta, *Pseudomonas syringe* a ocho y *Xanthomona campestris* a nueve, lo cual evidencia la resistencia a antimicrobianos desarrollada o adquirida por microorganismos fitopatógenos y la necesidad de buscar nuevas alternativas de tratamiento eficaces, de bajo impacto ambiental y que brinden la posibilidad de producir alimentos inocuos (Morales-Ubaldo et al., 2021).

Con la finalidad de identificar especies vegetales con potencial antimicrobiano y fito protector, Acero en 2023 evaluó aceite esencial de 10 plantas como *Lippia alba* (Juanilama), *Mentha* sp. (Hierbabuena), *Cymbopogon* sp. (Zacate limón), *Origanum majorana* (mejorana) entre otras, sobre *Ralstonia solanacearum*, observándose mejores efectos antibacterianos con el aceite esencial de *Cymbopogon* sp. (Zacate limón) con una CMI 0.315 mg/mL y CMB 0.625 mg/mL (Acero, 2023), resultados similares a los obtenidos en el presente experimento utilizando el aceite esencial de clavo.

En 2020, Selles et al., evaluaron la actividad antioxidante y antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* obtenido de los botones florales mediante hidrodestilación; frente a seis bacterias enteropatógenas aisladas de diarrea de terneros jóvenes, mostrando que el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* posee potencial actividad antioxidante y antibacteriana *in vitro* ya que mostró una CMI de 1.36 a 2.72 y una CMB de 5.45 a 10.9 mg/mL (Selles et al., 2020), valores superiores a los reportados en el presente experimento, lo cual podría deberse a que la evaluación se realizó sobre bacterias

que infectan bovinos con características de crecimiento, estructura y perfiles de resistencia diferentes.

Doukkali et al., 2021, evaluaron el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* obtenido mediante hidrodestilación frente a *Erwinia amylovora* determinándose que el aceite de *Syzygium aromaticum* presenta como parte de su composición fitoquímica, eugenol en un 58%, respecto a la actividad antibacteriana se reportan halos de inhibición de 15 a 26.9 mm a concentraciones de 2 a 10 μ L (Doukkali et al., 2021). Popović et al., en 2018 determinaron la actividad antibacteriana de 30 aceites esenciales incluido, clavo (*Syzygium aromaticum*) frente a tres bacterias fitopatógenas (*Erwinia amylovora*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* y *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*), observando que el aceite esencial de clavo genera zonas de inhibición de 35 mm contra *E. amylovora* y *X. campestris* pv. *Campestris* y de 20 mm sobre *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Popović et al., 2018), en ambos estudios se utilizó la técnica de difusión en disco, por lo que los resultados no son comparables con los reportados en el presente experimento, ya que en el presente estudio se utilizó la técnica de micro dilución en placa.

Morales-Ubaldo y colaboradores en 2021, determinaron el potencial antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Larrea tridentata* y sus fracciones acuosa y orgánica sobre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris*, utilizando la técnica de microdilución en placa y sembrado en placa, para determinar la CMI y CMB, reportando mejores efectos con el extracto hidroalcohólico y la fracción orgánica sobre *Xanthomonas campestris* con una CMI de 0.39 mg/mL y una CMB de 0.78 mg/mL, obteniéndose resultados similares a los reportados en el presente experimento a pesar de haber evaluado productos diferentes (extractos y aceite esencial) obtenidos de dos plantas diferentes con diferentes técnicas (maceración y arrastre de vapor). Respecto a la relación CMB/CMI en el mismo estudio se reportan efectos bactericidas sobre las tres bacterias (Morales-Ubaldo et al., 2021), como ocurrió en el presente estudio.

Los estudios en los cuales se reporta la composición química del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, indican que el eugenol y el acetato de eugenilo son los principales compuestos fitoquímicos en dicho aceite, sin embargo, se sabe que su composición química se puede ver modificada en tipo de compuestos y concentración dependiendo de las

condiciones medioambientales donde se desarrolla la planta, el genotipo, origen geográfico, período de cosecha, temperatura, así como el método de extracción utilizado para obtener el aceite esencial, entre otros (Selles et al., 2020, Acero, 2023).

Respecto al eugenol, se sabe que es un derivado fenólico, con reportes de actividad bactericida, cuyo modo de acción consiste en generar alteraciones en la integridad de la pared celular (degeneración de proteínas) y la membrana citoplasmática, alterando la respuesta fisiológica del microorganismo, al sensibilizar su membrana celular y citoplasmática, generando alteraciones que culminan con la lisis bacteriana; por otro lado, puede actuar inhibiendo la producción de enzimas intracelulares, tales como amilasas y proteasas, lo que provoca el deterioro de la pared bacteriana, con la consiguiente lisis celular (Leyva et al., 2013, Castañeda et al., 2019).

14. CONCLUSIÓN

El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* (clavo) tiene actividad bactericida, por lo que puede ser una alternativa funcional, sustentable e inocua para el control y/o tratamiento de microorganismos fitopatógenos como *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris* y *Clavibacter michiganensis* en diversos cultivos.

15. PERSPECTIVA

Es necesario realizar desafíos *in situ* para corroborar la eficacia del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) tanto en cultivos a cielo abierto como en invernadero que estén infectados por *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris* y *Clavibacter michiganensis*.

16.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acero Godoy, J. (2023). Potencial fitoprotector de los aceites esenciales de diez plantas colombianas en semillas y plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Tesis de doctorado, Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo).

https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/26154/20230531_2017-UNA_Tesis%20Doctoral%20DOCINADE_GRN_Jovanna%20Acero%20Godoy.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Ajayasree, T. S., Borkar, S. G., & Barhate, B. G. (2018). Bactericidal potential of agrochemicals against bacterial leaf spot pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* of tomato prevalent in Nashik region, Maharashtra and ability of bacteria to form pesticide-resistant mutant. *Journal of Advanced Research in Biotechnology*, 3(2), 1-5.

<https://doi.org/10.15226/2475-4714/3/2/00138>

Al-Mijalli, H. A. (2023). Exploring the antibacterial mechanisms of chemically characterized essential oils from leaves and buds of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *ScienceDirect*.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117561>

Alvarado Ibarra, J., Valencia López, C. A., Castillo Moreno, M. R., Luna Reyes, P. D., Borboa Servin, J. A., Mexia Apodaca, M. E., & Ruiz Sandoval, N. C. (2016). Agroquímicos organofosforados y su potencial daño en la salud de trabajadores agrícolas del campo sonoreense. *Ciencia ergo-sum*, 26(1), 1-8.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7069704>

Castañeda Martínez, A., Benitez Valle, C., Castañeda Montero, J. E., Breceda Pérez, E., Correa Cuevas, L. P., Bernal Pérez, J. A., & Becerra Verdín, E. M. (2019). Evaluación del efecto antimicrobiano de *Eugenia caryophyllus* en microorganismos de la cavidad bucal.

Revista de Investigación en Ciencias de la Salud, 14(1), 21-23.
<https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=116156>

Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standards; CLSI Document M7-A5; CLSI:Wayne, PA, USA, 2012.

Conceição Rodrigues, T., Bomfim Gois, I., Miranda Fernandes, R. P., Fitzgerald Blank, A., Dutra Sandes, R. D., Leite Neta, M. T. S., Narendra Narain, & Arrigoni-Blank, M. de F. (2023). Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils from *Croton grewoides* Baill. accessions on the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 193, 1-8.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105454>

Cortés Rojas, D. F., Fernandes de Souza, C. R., & Pereira Oliveira, W. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2), 90-96. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60215-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X)

da Silva, R. S., Gonçalves de Oliveira, M. M., de Melo, J. O., Blank, A. F., Corrêa, C. B., Scher, R., & Miranda Fernandes, R. P. (2019). Antimicrobial activity of *Lippia gracilis* essential oils on the plant pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and their effect on membrane integrity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 160, 40-48.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.06.014>

Demars, M., McDowell, T., Renaud, J. B., Scott, A., Fruci, M., & Topp, E. (2024). Persistence and evidence for accelerated biodegradation of streptomycin in agricultural soils. *Science of The Total Environment*, 929. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172502>

Dilbar, S., Sher, H., Ali, A., Ullah, Z., & Ali, I. (2023). Biological synthesis of Ag-nanoparticles using *Stachys parviflora* and its inhibitory potential against *Xanthomonas*

campestris. South African Journal of Botany, 157, 409-422.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.04.034>

Doukkali, E., Radouane, N., Tahiri, A., Tazi, B., Guenoun, F., & Lahlali, R. (2021). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Cinnamomum cassia* and *Syzygium aromaticum* plants and their nanoparticles against *Erwinia amylovora*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 55(2), 217–234.
<https://doi.org/10.1080/03235408.2021.2015865>

Dueñas-Moreno, J., Vázquez-Tapia, I., Mora, A., Cervantes-Avilés, P., Mahlkecht, J., Capparelli, M. V., Kumar, M., & Wang, C. (2023). Occurrence, ecological and health risk assessment of phthalates in a polluted urban river used for agricultural land irrigation in central Mexico. Environmental Research, 240. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117454>

Fodil, S., De Zotti, M., Tundo, S., Gabbatore, L., Vettorazzo, I., Luti, S., Musetti, R., Sella, L., Favaron, F., & Baccelli, I. (2024). Multiple lysine substitutions in the peptaibol trichogin GA IV enhance the antibiotic activity against plant pathogenic *Pseudomonas syringae*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 201. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2024.105901>

Guangjin, F., Qingli, X., Qian, L., Yinling, X., Hui, F., Xiaozhou, M., Lin, C., & Xianchao, S. (2023). Antimicrobial mechanisms of ZnO nanoparticles to phytopathogen *Pseudomonas syringae*: Damage of cell envelope, suppression of metabolism, biofilm and motility, and stimulation of stomatal immunity on host plant. Pesticide Biochemistry and Physiology, 194, 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105455>

He, L.-L., Wang, X., Rothenberg, D. O'N., Xu, X., Wang, H.-H., Deng, X., & Cui, Z.-N. (2023). A novel strategy to control *Pseudomonas syringae* through inhibition of type III secretion system. Pesticide Biochemistry and Physiology, 194. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105471>
<https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=116156#:~:text=36%20E1%20eugenol%2C%20act%20C3%20BAA%20inhibiendo,alto%20grado%20de%20lisis%20celular.>

Ibarrola-Rivas, M.-J., Unar-Munguía, M., Kastner, T., & Nonhebel, S. (2022). Does Mexico have the agricultural land resources to feed its population with a healthy and sustainable diet? *Sustainable Production and Consumption*, 34, 371-384. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2022.09.015>

INECOL (Instituto de Ecología). (2022). Bacterias protectoras de cultivos agrícolas. Portal Comunicación Veracruzana. <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/1620-bacterias-protectoras-de-cultivos-agricolas>

Jiménez Díaz, R. M. (2017). Las enfermedades de las plantas: Impactos, amenazas y control. *Boletín de la Real Academia de Córdoba de Ciencias, Bellas Letras y Nobles Artes*, 166, 11-130. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6594140>

Kim, J. H., Lee, G. H., Jeong, J.-H., Kim, Y.-G., & Park, H. H. (2023). The structure of MucD from *Pseudomonas syringae* revealed N-terminal loop-mediated trimerization of HtrA-like serine protease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 688. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.149175>

Konappa, N., Arakere, U. C., Krishnamurthy, S., Chowdappa, S., & Jogaiah, S. (2022). Exploring the potential role of *Trichoderma* as friends of plants and foes for bacterial plant pathogens. In *Biopesticides* (pp. 383-399). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823355-9.00002-X>

Leyva, J. M., Pérez-Carlón, J. J., González-Aguilar, G. A., Esqueda, M., & Ayala-Zavala, J. F. (2013). Funcionalidad antibacteriana y antioxidante de extractos hidroalcohólicos de *Phellinus merrillii*. *Revista Mexicana de Micología*, 37, 11-17. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802013000100003&lng=es&nrm=iso

Li, M., Wang, J., Zhao, P., Chen, K., & Wu, L. (2020). Factors affecting the willingness of agricultural green production from the perspective of farmers' perceptions. *Science of The Total Environment*, 738. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140289>

López-Sánchez, A., Luque-Badillo, A. C., Orozco-Nunnelly, D., Alencastro-Larios, N. S., Ruiz-Gómez, J. A., García-Cayuela, T., & Gradilla-Hernández, M. S. (2021). Food loss in the agricultural sector of a developing country: Transitioning to a more sustainable approach. The case of Jalisco, Mexico. *Environmental Challenges*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100327>

Méndez Andrade, R. (2019). Efectividad antibacterial in vitro e in vivo de nanopartículas de plata biosintetizadas a partir de extractos de *Larrea tridentata* contra *Clavibacter michiganensis* en plantas de *Solanum lycopersicum* (Tesis de maestría, Centro de Investigación en Química Aplicada). https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/631/1/Tesis_RolandoMendez%202019.pdf

Monchiero, M., Gullino, M. L., Pugliese, P., Spadaro, D., & Garibaldi, A. (2015). Efficacy of different chemical and biological products in the control of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* on kiwifruit. *Australasian Plant Pathology*, 44, 13–23. <https://doi.org/10.1007/s13313-014-0328-1>

Montoya, M. L., Restrepo, F. M., Moreno, N., & Mejía, P. A. (2013). Impacto del manejo de agroquímicos, parte alta de la microcuenca Chorro Hondo, Marinilla, 2011. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 32(2), 26-35. <https://www.redalyc.org/pdf/120/12030433004.pdf>

Morales-Ubaldo, A. L., Rivero-Pérez, N., Avila-Ramos, F., Aquino-Torres, E., Prieto-Méndez, J., Hetta, F., El-Saber Batiha, G., & Zaragoza-Bastida, A. (2021). Bactericidal activity of *Larrea tridentata* hydroalcoholic extract against phytopathogenic bacteria. *Agronomy*, 11(5), 957. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050957>

Nehra, A., Kalwan, G., Gill, R., Nehra, K., Agarwala, N., Jain, P. K., Naeem, M., Tuteja, N., Pudake, R. N., & Gill, S. S. (2024). Status of impact of abiotic stresses on global agriculture. In *Nanotechnology for abiotic stress tolerance and management in crop plants* (pp. 1-21). <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18500-7.00001-6>

Omran, B. A., Rabbee, M. F., & Baek, K.-H. (2024). Biologically inspired nanoformulations for the control of bacterial canker pathogens *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and subsp. *capsici*. *Journal of Biotechnology*, 392, 34-47. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2024.06.017>

Ortiz García, S., Saynes Santillan, V., Bunge Vivier, V., Anglés-Hernández, M., Pérez, M. E., & Prado, B. (2002). Soil governance and sustainable agriculture in Mexico. *Soil Security*, 7. <https://doi.org/10.1016/j.soisec.2022.100059>

Ortiz-Carrión, B. (2022). Perception and prevention of groundwater collapse in agricultural communities of similar socioeconomic profile: Synthesizing the case of Santa Isabel, Puerto Rico and Magdalena, New México. *Groundwater for Sustainable Development*, 19. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2022.100820>

Özdikicierler, O., & Günç Ergönül, P. (2022). Encapsulation of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil. In *Academic Press* (pp. 517-530). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00028-8>

Pardo, C., Bellati, A., Polverino, G., & Canestrelli, D. (2024). The dark side of organic farming: Copper sulphate compromises the life history and behaviour of the walking stick insect, *Bacillus rossius*. *Science of The Total Environment*, 942. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173626>

Popović, T., Milićević, Z., Oro, V., Kostić, I., Radović, V., Jelušić, A., & Krnjajić, S. (2018). A preliminary study of antibacterial activity of thirty essential oils against several important

plant pathogenic bacteria. *Pesticidi i Fitomedicina*, 33(3-4), 185–195.
<https://doi.org/10.2298/PIF1804185P>

Robles-Chávez, J. E., & Nuñez, H. M. (2023). Impacts of hydro-meteorological phenomena and disaster policies on the Mexican agricultural sector. *World Development Perspectives*, 31.
<https://doi.org/10.1016/j.wdp.2023.100521>

SAGARPA. (2016). El impacto de las plagas y enfermedades en el sector agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://www.gob.mx/siap/articulos/el-impacto-de-las-plagas-y-enfermedades-en-el-sector-agricola>

Sánchez Sánchez, H. (2019). Factores abióticos. Universidad Autónoma del Estado de México.
http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/108096/secme10856_1.pdf?sequence=1

Sotelo, J. P., Paletti Rovey, M. F., Carezzano, M. E., Moliva, M. V., & Oliva, M. M. (2023). Characterization of *Pseudomonas syringae* strains associated with soybean bacterial blight and in vitro inhibitory effect of oregano and thyme essential oils. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 128, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102133>

TORRES D., Capote T. 2004. Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Ecosistemas*. 13(3):2-6. ISBN: 1697-2473, <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/201/198>

Tripathi, R., Vishunavat, K., & Tewari, R. (2022). Morphological and molecular characterization of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* causing bacterial canker in tomatoes. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 119.
<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101833>

Viana, C. M., Freire, D., Abrantes, P., Rocha, J., & Pereira, P. (2022). Agricultural land systems importance for supporting food security and sustainable development goals: A

systematic review. *Science of The Total Environment*, 806. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150718>

Wang, G., Li, J., Zhang, W., Jiang, L., Mai, Y., Chen, J., Deng, L., Chen, L., Lin, Y., Li, X., Zou, H., Xu, P., Jiang, L., Yuan, C., & Huang, M. (2024). A class of photosensitizer highly effective to control bacterial infection in plants even on rainy days with dim light. *Dyes and Pigments*, 225. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2024.112065>

Yongjian Xu, Hao Chen, Lan Zhang, Yang Xu. 2023. Clove essential oil loaded chitosan nanocapsules on quality and shelf-life of blueberries. *International Journal of Biological Macromolecules*. (249). ISSN 0141-8130. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126091>

Zain, M., Ma, H., Nuruzzaman, M., Chaudhary, S., Nadeem, M., Shakoor, N., Azeem, I., Duan, A., Sun, C., & Ahamad, T. (2023). Nanotechnology based precision agriculture for alleviating biotic and abiotic stress in plants. *Plant Stress*, 10. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100239>

Zhang, J., Tian, Y., Wang, J., Ma, J., Liu, L., Islam, R., Qi, Y., Li, J., & Shen, T. (2023). Inhibitory effect and possible mechanism of oregano and clove essential oils against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* as onion soft rot in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 196. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.112164>

Zhaoyue Yang, Tianbo Liu, Jianqiang Fan, Yiqiang Chen, Shaolong Wu, Jingjing Li, Zhenghua Liu, Zhendong Yang, Liangzhi Li, Suoni Liu, Hongwu Yang, Huaqun Yin, Delong Meng, Qianjun Tang. 2024. Biocontrol agents modulate phyllosphere microbiota interactions against pathogen *Pseudomonas syringae*. *Environmental Science and Ecotechnology*. (21). ISSN 2666-4984. <https://doi.org/10.1016/j.ese.2024.100431>