

1 **Extractos de *Tagetes patula*, L. (Asteraceae): un potencial bactericida contra el MOKO**

2 **Extractives from *Tagetes patula* L. (Asteraceae): a potential bactericide against the MOKO.**

3  
4 Eliana Marcela Soto Rueda<sup>1,2</sup>, Yenni Leandra Rodríguez Ruiz<sup>1,2</sup>, Nelsy Loango Chamorro<sup>1,3</sup>, Patricia  
5 Landázuri<sup>1\*</sup>

6 <sup>1</sup> Universidad del Quindío, Facultad de Ciencias de la Salud; Colombia, Sud América. Carrera 15 Calle  
7 12Norte.telefono 57 67359300 ([eli.soto.2@hotmail.com](mailto:eli.soto.2@hotmail.com), [leyn\\_269@hotmail.com](mailto:leyn_269@hotmail.com)); <sup>2</sup>Jóvenes  
8 investigadores de Colciencias. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Programa de Biología.  
9 Universidad del Quindío; [neloango@uniquindio.edu.co](mailto:neloango@uniquindio.edu.co)

10 \*Autor para correspondencia: [plandazu@uniquindio.edu.co](mailto:plandazu@uniquindio.edu.co)

11  
12 **RESUMEN**

13 *Ralstonia solanacearum* Raza 2 es la causante del Moko o marchitez bacteriana, produciendo grandes  
14 pérdidas económicas en cultivos como plátano, tabaco y tomate. Se han descrito varios componentes de  
15 los extractos y del aceite esencial (AE) de *Tagetes patula* L, que incluyen: benzofuranos, carotenoides,  
16 flavonoides y tiofenos que son biológicamente activos y potencialmente alelopáticos contra muchos  
17 organismos patógenos. Las investigaciones del efecto de los extractos y el AE de *T. patula* L contra *R.*  
18 *solanacearum* son escasas. El objetivo de esta investigación fue analizar el potencial antioxidante y  
19 determinar el efecto de los extractos Metanólicos de flores (EMF) y de hojas (EMH) y el AE sobre el  
20 crecimiento de la bacteria. El EMF de *T. patula* posee mayor capacidad captadora de radicales libres  
21 (DPPH) que el AE, posiblemente relacionado con su mayor contenido de fenoles. También el EMF tiene  
22 un alto contenido en flavonoides y terpenoides. La composición química del AE fue determinada por  
23 cromatografía gas/masa, la cual reveló seis componentes mayores, los cuales representan más del 84% del  
24 AE: Indano 5.47%, D-limoneno 5,76%, Z-ocimeno 5,98%, terpinoleno 6,73%, Bervenona 19,98% y la  
25 piperitona con el 40,4 %.

1 El EMF como el AE inhibieron el crecimiento de *R solanacearum* raza 2, pero el AE fue más efectivo  
2 (radio de inhibición 16 cm). Basados en estos resultados EMF y AE de flores y hojas de *T. patula* puede  
3 ser una opción para el control *R solanacearum* raza 2.

4  
5 **Palabras clave:** *Tagetes patula* L., *Ralstonia solanacearum*, antioxidante, extractos vegetales, Aceite  
6 Esencial.

#### 7 **ABSTRACT**

8 *Ralstonia solanacearum* race 2 is the cause of Moko or bacterial wilt, producing large economic losses in  
9 crops such as banana tobacco and tomato. Several components of *Tagetes patula* L extracts and essential  
10 oil (EO) have been described which include: benzofurans, carotenoids, flavonoids and thiophenes which  
11 are biologically active and potentially allelopathic against many pathogenic organisms. The investigations  
12 of extracts and EO effect of *T. patula* against *R. solanacearum* are scarce. The objective of this research  
13 was to analyze the antioxidant potential and to determine the effect of methanolic flower extracts (MFE)  
14 and leaves (MLE) and the EO on the growth of the bacteria. The tagetes patula MFE has a higher capacity  
15 for free radical scavenging (DPPH) than EO, possibly related to its higher phenol content. Also the MFE  
16 has a high content in flavonoids and terpenoids. The chemical composition of EO was determined by gas /  
17 mass chromatography, which revealed six major components, which represent more than 84% of EO:  
18 Indane 5.47%, D-limonene 5.76%, Z-ocimene 5.98% Terpinolene 6.73%, Bervenone 19.98% and  
19 piperitone with 40.4%. The MFE as the EO inhibited the growth of *R. solanacearum* race 2, but EO was  
20 more effective (inhibition radius 16 cm). Based on these results MFE and EO of flowers and leaves of *T.*  
21 *patula* may be an option for control *R solanacearum* race 2.

22

23 **Keywords:** *Tagetes patula* L., *Ralstonia solanacearum*, antioxidant, vegetables extract, essential oil.

24

25

26

# 1 INTRODUCCIÓN

2

3 *Ralstonia solanacearum* causa grandes pérdidas económicas a los cultivadores de plátano, tabaco y  
4 tomate. La infección con esta bacteria reduce la producción en estos cultivos a través de los daños que  
5 causa en el sistema vascular de la planta y en consecuencia a todas sus partes (hojas, flores, frutos, tallos),  
6 llevando a la enfermedad conocida como Moko o marchitez bacteriana. El control de *R. solanacearum* es  
7 lograda principalmente a través de la eliminación del cultivo y la posterior cuarentena de los suelos,  
8 porque muy poco se ha logrado con bactericidas sintéticos debido a la alta capacidad de supervivencia de  
9 la bacteria (Kheirandish y Harighi, 2015; Ceballos et al., 2014), por lo tanto, el uso de extractos de plantas  
10 como agentes de control para esta bacteria es un área de investigación promisoría, no solo por su bajo  
11 costo, y la seguridad para la salud humana, sino por ser amigable con el ambiente.

12

13 El género *Tagetes* son hierbas perennes anuales, de 20 a 30 cm de altura, que pertenece a la familia de las  
14 Asteraceae. Esta planta originaria de norte y sur América pero con amplia distribución mundial, es usada  
15 en la medicina tradicional de muchas regiones del mundo. Existen cerca de 30 especies de *Tagetes*, las  
16 más estudiadas son *T. patula*, *T. minuta* y *T. erecta*, (Xu et al., 2012). Como resultado de estos estudios, se  
17 han descrito varios componente de sus extractos y del aceite esencial, que incluyen: benzofuranos,  
18 carotenoides, flavonoides y tiofenos tales como: terpineol, (Z)-ocimeno, dihidrotagetona, (E)-ocimenona,  
19 (Z)-tagetona, and (Z) ocimenona, piperitona, que son biológicamente activos y potencialmente  
20 alelopáticos contra muchos organismos patógenos como hongos, bacterias, virus nematodos, insectos,  
21 garrapatas entre otros (Hooks et al., 2010; Andreotti et al., 2013; Politi et al., 2016) ). Sin embargo, el rol  
22 de estos compuestos no ha sido plenamente caracterizado contra *R solanacearum*, dado que el control de  
23 esta bacteria es problemático, hay necesidad de encontrar nuevas estrategias de control.

24

25 Basados en la fitoquímica descrita en recientes estudios de *T. patula* L, como es su riqueza en flavonoides  
26 y terpenoides y su potencial biocida, la presente investigación tuvo como objetivo, por un lado analizar el

1 potencial antioxidante de los extractos y el AE de *T. patula* y por otro lado, determinar el efecto de los  
2 extractos y el AE sobre el crecimiento de *R. solanacearum*.

3

#### 4 **MATERIALES Y MÉTODOS**

5

##### 6 **Material vegetal:**

7

8 Las flores frescas de *Tagetes patula* L, fueron colectadas de plantas sembradas en la finca La Alsacia,  
9 Buenavista, Quindío (4°21'35''N – 75°44'21''W. 1450msnm. Cordillera central), se realizó la  
10 determinación taxonómica y se depositó un espécimen en el herbario de la Universidad del Quindío  
11 (HUQ) (registro #36926, código #12929).

12

##### 13 **Preparación de extractos**

14

15 El material vegetal (hojas y flores), fue lavado y secado en un horno a 40 °C y posteriormente  
16 pulverizado.

17

18 Los extractos metanólicos de hojas (EMH) y flores (EMF) secas y pulverizadas de *T. patula*, se  
19 obtuvieron mediante percolación continua con metanol anhidro por dos semanas, la solución se filtró y se  
20 concentró utilizando un rotaevaporador (marca Heydolf), finalmente fueron liofilizados hasta alcanzar una  
21 humedad aproximada del 5%.

22

23 Las clorofilas del EMH, fueron separadas por la acción de una mezcla Etanol- Agua que permite  
24 precipitarlas, la solución obtenida se filtró al vacío y se concentró en un evaporador rotatorio a presión  
25 reducida y a una temperatura de 38 °C. Este extracto fue liofilizado hasta obtener un extracto con  
26 aproximadamente 5% de humedad.

## 1 **Análisis fitoquímico de los extractos de *T. patula***

2  
3 Se evaluó el EMH y el EMF, para la identificación de taninos, saponinas, flavonoides, quinonas, esteroides,  
4 triterpenoides, naftoquinonas y antraquinonas, glucósidos cardiotónicos, lactonas terpénicas y alcaloides  
5 siguiendo métodos de identificación estándares. (Carvajal-Rojas et al., 2009).

## 6 7 **Actividad antioxidante DPPH**

8  
9 La actividad antioxidante fue determinada por la captación de radicales libres del 1,1-difenil-2-  
10 picrilhidrozyl (**DPPH'**) aplicando la metodología descrita por Guha et al. (2010 y 2011). Se evaluaron  
11 diferentes concentraciones de los extractos de *T. patula*, EM (35, 25, 15, 8, 4, 2 µg/mL), preparadas en  
12 metanol, y AE (3, 2.6, 2.1, 1.7, 0.9, 0.65 mg/mL). Los extractos reaccionaron con el DPPH por 30 min en  
13 la oscuridad, luego se leyeron a 517 nm en espectrofotómetro génesis 5. El cálculo de la actividad  
14 antioxidante se realizó con la fórmula: actividad antioxidante (%) = [control-muestra] / [control] x 100.

## 15 16 **Determinación de fenoles totales**

17  
18 El método Folin-Ciocalteu (Stagos et al., 2012) fue utilizado para la determinación del contenido fenólico  
19 total de los extractos, con ácido gálico como muestra patrón. Para cada muestra se utilizó 1 mg/ml de cada  
20 extracto, todos los ensayos se realizaron por triplicado y los resultados son expresados como mg de Ácido  
21 gálico/ g de extracto (mg AG/ g).

## 22 23 **Obtención y análisis del aceite esencial de *T patula*.**

24  
25 La extracción del aceite esencial (AE) se realizó por destilación con arrastre de vapor según algunas  
26 modificaciones al método de Leal y colaboradores (Torres et al., 2013); brevemente: 3 kg de hojas y flores

1 (50:50 de hojas y flores frescas), fueron sometidas a un proceso de destilación por arrastre de vapor de  
2 agua (temperatura  $\pm$  100 °C), para la obtención de los compuestos volátiles el condensador se mantuvo  
3 entre 0 y 4 °C. El aceite esencial se separó, por el método de extracción líquido – líquido, con acetato de  
4 etilo el cual fue retirado por rotaevaporación. El aceite esencial se conservó en un frasco de color ámbar y  
5 en refrigeración, para su posterior análisis.

6

### 7 **Determinación de los componentes del aceite esencial**

8

9 Se realizó en un Cromatógrafo de Gases acoplado a un Espectrómetro de Masas (CG/EM) zhimadzu,  
10 modelo GC: Autosystem. TemXL, MS: Turbo Mass en las siguientes condiciones: Columna Rtx<sup>®</sup>-5 de 30  
11 m de largo, diámetro 0,25  $\mu$ , temperatura de inyección: 240°C, volumen de inyección: 5  $\mu$ L. La detección  
12 de los componentes químicos fue por comparación con los estándares de espectros de masas de las  
13 respectivas bibliotecas. El porcentaje relativo de los compuestos individuales fue determinado con base al  
14 método de normalización del área bajo el pico usando factores de corrección.

15

### 16 **Actividad antibacteriana**

17

#### 18 ***Cepas de Ralstonia solanacearum raza 2***

19 Las cepas fueron aisladas de material vegetal (frutos de plátano *Dominico hartón*) infectado con Moko e  
20 identificadas como *Ralstonia solanacearum* raza 2 por comparación morfológica y biología molecular,  
21 con una cepa control *R. solanacearum* raza 2 CIAT 1040 proporcionada por el Centro Internacional de  
22 Agricultura Tropical (CIAT) Palmira-Colombia.

23 Para todos los ensayos de actividad antimicrobiana se utilizó el método de difusión en Agar (Montiel et  
24 al., 2016); el método se fundamenta en la difusión del aceite esencial en medio sólido alrededor de la  
25 excavación de 6 mm realizada con un sacabocados. Inicialmente se preparó el inóculo de estándar, se  
26 tomó una asada del cultivo de *R. solanacearum* raza 2, y se suspendió en 5 mL de solución salina estéril

1 hasta alcanzar la turbidez de 0,5 de la escala de Mc Farland equivalente a  $1,5 \times 10^9$  UFC/mL. Se distribuyó  
2 este inóculo sobre el agar solido cuidadosamente con un hisopo estéril, pasados 15 minutos de fijación de  
3 los microorganismos en el agar se realizaron las perforaciones con el sacabocados y se adicionaron 25  $\mu$ L  
4 del aceite esencial.

5 Además en placas separadas se probaron diferentes concentraciones de los extractos metanólicos de *T.*  
6 *patula* de 40, 60, 80 y 100 mg/mL. Se adicionó 25  $\mu$ L de cada concentración en las excavaciones de 6  
7 mm. Las placas se incubaron a 30 °C. El efecto antimicrobiano fue dado por el diámetro de la zona de  
8 inhibición.

9

#### 10 **Análisis estadístico:**

11

12 En donde es posible los datos son expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar.

13

## 14 **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

15

### 16 **Análisis fitoquímico de los extractos de *T. patula***

17

18 El análisis fitoquímico preliminar de los extractos EMH y EMF, demostró la presencia de algunos  
19 metabolitos secundarios, tales como taninos, saponinas, flavonoides, terpenos, quinonas, azucres entre  
20 otros descritos en la **tabla 1**.

21

22

23

24

25

26

1 **Tabla 1. Análisis fitoquímico de los extractos metanólicos de *T. patula* L.**

Metabolito	EMH	EMF
Taninos	+	+++
Flavonoides	++	+++
Quinonas	-	++
Cardiotónicos	-	-
Desoxiazucars	+	+
Azucars	++	+++
Cumarinas, lactonas terpénicas	++	++
Esteroides y triterpenoides	+	++

2 \*EMH: extracto metanólico de hojas; EMF: extracto metanólico de flores; + presencia; -  
 3 ausencia.

4  
 5 Los compuestos más abundantes para el extracto metanólico de hojas fueron flavonoides, azucars y  
 6 Cumarinas, lactonas terpénicas, para el de flores fueron taninos, flavonoides y azucars.

7  
 8 Los metabolitos secundarios encontrados en este trabajo en los extractos metanólicos de hojas y flores de  
 9 *T. patula*, también han sido identificados por otros autores, por ejemplo, en esta planta, se han descritos  
 10 más de doce flavonoides, como quercetagetina y sus derivados, kaempferol, kaempferitrina y sus  
 11 derivados, miricetina y sus derivados, patuletina, y luteína entre otros. También esteroides como  $\beta$ -  
 12 sitosterol y colesterol. (Xu et al., 2012). Muchos de estos compuestos muestran un alto potencial para ser  
 13 incluidos como nuevos medicamentos o como pesticidas (Raut y Karuppayil, 2014; Politi et al., 2016).  
 14 También otras aplicaciones como su actividad antioxidante, emergen gradualmente de los estudios de los  
 15 compuestos de *Tagetes spp.* (Raut y Karuppayil, 2014).



1 La cromatografía gas-masa del aceite esencial de hojas y flores, permitió hacer una identificación más  
2 detallada de algunos de estos compuestos y sus propiedades como se describe más adelante.

3

4

### 5 **Actividad antioxidante DPPH**

6

7 El EMF tuvo la mayor capacidad captadora de radicales libres DPPH, así: 35 µg/ml de EMF, captaron  
8 89,52 %, 120 µg/ml EMH 85,95 % y 3 mg/ml de AE (42,41 %); La concentración que posee el 50% de  
9 captación de los radicales DPPH se estableció para el EMF en 13,21 µg/ml, y para el EMH: 52,85 mg/ml:  
10 para el aceite esencial no fue posible establecerla, ya que su concentración no fue comparable con el  
11 estándar.

12

13

### 14 **Determinación de fenoles totales**

15

16 El EMF exhibió el mayor contenido fenólico con 227,67 µg Eq- de Ácido gálico/ mg de EMF, seguido  
17 por el EMH con 153,48 µg Eq- de Ácido gálico/ mg de EMH, mientras que el AE de flores y hojas, tuvo  
18 el menor contenido fenólico con 14,44 g Eq- de Ácido gálico/ mg de AE.

19

20 Diferentes trabajos relacionan el contenido de compuestos fenólicos (incluidos los flavonoides) en plantas  
21 con su capacidad de eliminar los radicales libres, (Al Dhaheri et al., 2013). En este estudio se encontró una  
22 relación entre el contenido fenólico de los extractos y su capacidad captadora de radicales libres, ya que  
23 los extractos con mayor contenido fenólico resultaron tener mayor capacidad de captación de radicales  
24 libres DPPH. Por otro lado autores han demostrado altos valores de actividad antioxidante del género  
25 *Tagetes* (Kazibwe et al., 2017)

1 Aún más se ha demostrado que los diferentes compuestos aleloquímicos con potencial actividad  
2 antioxidante, no solo están involucrados en los mecanismos de defensa de la planta, sino que pueden ser  
3 responsables de la actividad citotóxica observada en este género (Politi et al., 2016); como se evidencia en  
4 los resultados contra *R solanacearum* que se describen más adelante. Sin embargo es necesario realizar  
5 más estudios sobre la citotoxicidad de estos compuestos y su capacidad antioxidante

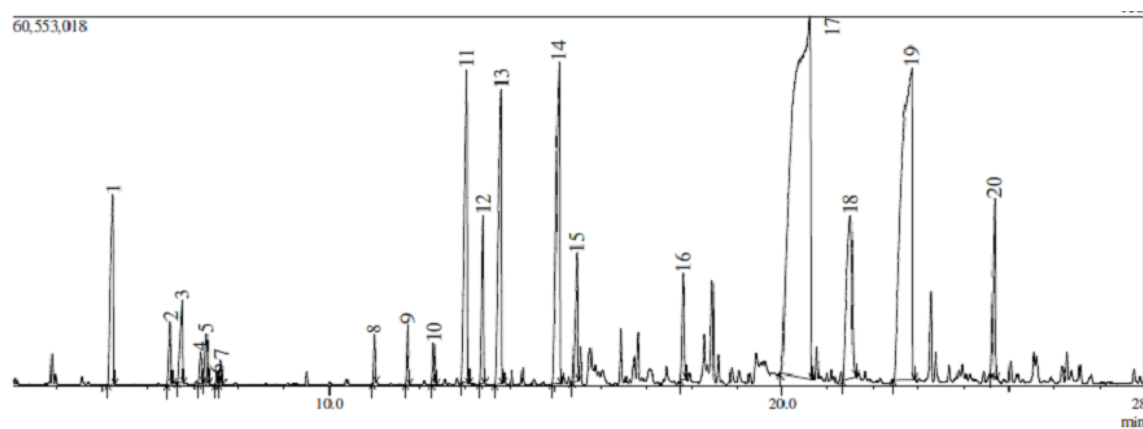
6

### 7 **Componentes del Aceite esencial de *T. patula***

8

9 La destilación por arrastre de vapor de flores de *T. patula* proporcionó 1 ml/Kg de aceite esencial. El  
10 análisis cualitativo y cuantitativo del mismo, realizado por cromatografía de gases-masa permitió la  
11 identificación de veinte compuestos (figura 1).

12



13

14 **Figura 1. Cromatograma del aceite esencial de hojas y flores de *tagetes patula* L.**

15

16 Los mayores componentes fueron seis, en orden ascendente: Indane 5.47%, D-limoneno 5,76%, Z-  
17 ocimeno 5,98%, terpinoleno 6,73%, Bervenona 19,98% y la piperitona con el 40,4 %; representando estos  
18 seis el 84,02 % de los componentes identificados, los cuales son descritos en la tabla 2.

19

1 **Tabla 2. Composición Química del aceite esencial de hojas y flores de *Tagetes patula*, expresados**  
 2 **como porcentajes.**

<b>Nº Pico</b>	<b>*TR</b>	<b>Compuestos</b>	<b>Sinónimos</b>	<b>Abundancia (%)</b>
<b>1</b>	5.233	Butyl ester	Acetato de <i>n</i> -butilo	3.62
<b>2</b>	6.503	2- Hexanal	(E)-2-Hexenal	0.81
<b>3</b>	6.760	3- Hexen- 1- ol	Cis-3- hexenol	1.31
<b>4</b>	7.173	2- Hexen- 1-ol	(E)-2-hexenol	0.39
<b>5</b>	7.301	1-Hexanol	Alcohol Hexílico	0.57
<b>6</b>	7.527	1-Butanol, 3-methyl- acetate	Isoamyl acetate	0.10
<b>7</b>	7.619	1-butanol 2-methyl- acetate	1. 2-methylbutanol acetate	0.23
<b>8</b>	11.006	Beta- phellandrene	Phellandrene	0.48
<b>9</b>	11.737	Beta- Myrcene	Mirceno	0.59
<b>10</b>	12.313	3-Hexen- 1-ol	Cis-3-hexenol	0.42
<b>11</b>	13.048	D- limonene	Limonene	5.76
<b>12</b>	13.404	Trans- beta- ocimene	Trans- $\beta$ - ocimene	1.98
<b>13</b>	13.804	1,3,6- octadien- 3- ol,	Z- ocimene	5.98
<b>14</b>	15.075	1- methyl-4-(1- methylethylidene)	Terpinolene	6.43
<b>15</b>	15.468	1, 6-octadien-3-ol	Linalool	1.84
<b>16</b>	17.810	Terpinen-4-ol	Terpinen-4-ol	1.37
<b>17</b>	20.604	2- cyclohexen-1-one	Piperitone	40.40
<b>18</b>	21.501	Indane	Indane	5.47
<b>19</b>	22.858	2- pinen- 4-one	Verbenone	19.98

---

1 \*TR: Tiempo de retención

2

3 Compuestos similares fueron descritos por Prakash et al. (2012), para las inflorescencias de *Tagetes*

4 *patula*, ellos encontraron que los mayores componentes del aceite esencial de esta variedad fueron: 1,8-

5 cineola (4,4%), (Z)-Beta-ocimeno (11,8 %), terpinoleno (6,9%), (Z)-ocimenone (6,4%), (E)-ocimenona

6 (3,0%), gama-elemeno (16,9%), piperitenona (3,3%),  $\beta$  -caryophyleno (18,6%) and (E)- $\beta$ -ionone (2,5%).

7 Muy similares a los encontrados en nuestro trabajo pero en menores porcentajes como la piperitona.

8 También Kyarimpa et al. (2014), en aceite esencial de *Tagetes minuta*, identificó nueve componentes

9 mayores, tres de los cuales coinciden con los identificados como mayores en el presente trabajo, a saber,

10 limoneno 8,0% , Beta-trans ocimeno 15,9% y verbenona 16,8%.

11

12 Estas diferencias en componentes y los porcentajes relativos puede deberse a factores ambientales y

13 estacionarios relacionados con el cultivo de las plantas, a la localización geográfica, a la parte de la planta

14 empleada, a la especie misma (*T.patula*, *T.erecta*, *T.minuta*), a la cantidad del material fresco, a los

15 sistemas de extracción, aunque estos son muy similares y a la cantidad de irrigación como ha sido

16 descrito por Umar et al. (2017) para *T. patula* y *T. erecta*, sometidas a diferentes estrategias de déficit de

17 irrigación. Ellos encontraron que componentes de los aceites esenciales como el cariofileno, terpinoleno

18 entre otros, pueden aumentar en estados de estrés por déficit de agua en distintas especies de *Tagetes*.

19

20 **Actividad antibacteriana**

21 Una vez obtenido los extractos metanólicos y el aceite esencial se probó su efecto antibacteriano contra *R.*

22 *Solanacerum* Raza 2.

23 *Ralstonia solanacearum* race 2 (Smith 1896) es una bacteria Gram-negativa, en forma de bacilo que

24 produce la enfermedad del Moko o marchites bacteriana, la cual afecta el sistema vascular de plantas

1 como plátano, banano, tabaco y tomate, entre otras. El Moko ha causado grandes estragos en los cultivares  
2 de papa, tabaco, plátano y banano en el mundo.

3  
4 Se han planteado muchas estrategias para combatir el Moko, entre ellas cultivar variedades resistentes y  
5 plantas transgénicas, o el uso de pesticidas de origen natural o químico (Liu et al., 2016; Ceballos et al.,  
6 2014), pero todas ellas con limitados éxito, debido a la capacidad de supervivencia en entornos  
7 complejos, amplia gama de huéspedes, amplia distribución geográfica y diversidad genética de *R.*  
8 *solanacearum* (Kheirandish y Harighi, 2015; Ceballos et al., 2014).

9 Los resultados del presente estudio muestran que el EMH no posee actividad antibacteriana frente *R.*  
10 *solanacearum*, mientras el EMF presentó una inhibición dependiente de la concentración, pero *R.*  
11 *solanacearum* raza 2, resultó ser muy sensible al AE de *T. patula*. Los diámetros para los halos de  
12 inhibición son mostrados en la tabla 3 y la figura 2.

13 **Tabla 3. Actividad antibacteriana de extractos de *T. patula* contra *Ralstonia solanacearum* raza 2.**

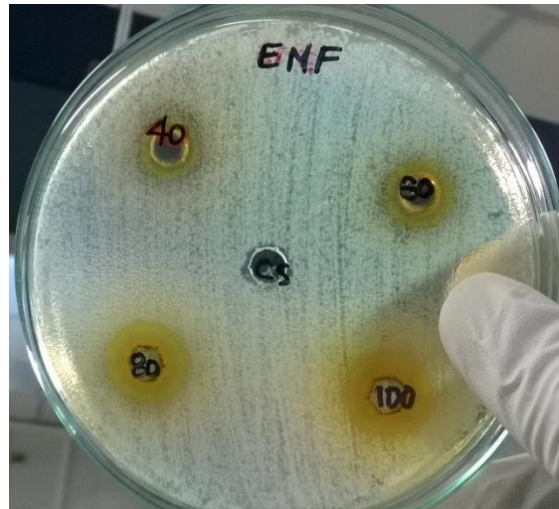
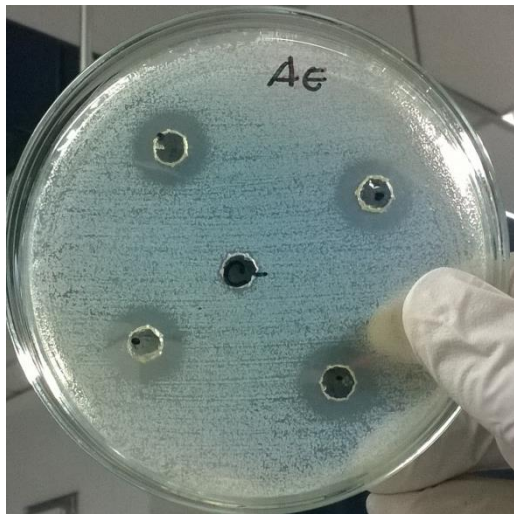
<b>Concentración</b>	<b>Halo de inhibición bacteriana</b>	<b>Resultados</b>
<b>mg/ml</b>	<b>del EMF (mm)</b>	
40	10	Sensibilidad limite (Sensible = +)
60	11	Sensibilidad limite (Sensible = +)
80	15	Media (muy sensible = ++)
100	16	Media (muy sensible = ++)

<b>Concentración</b>	<b>Halo de inhibición bacteriana</b>	<b>Resultado</b>
<b>en %</b>	<b>del AE (mm)</b>	
100	16	Media (muy sensible = ++)

14

15



2

3 **Figura 2. Halos de inhibición del aceite esencial (AE) y el extracto metanólico de flores (EMF) frente**  
4 **a *Ralstonia solanacearum* raza 2.**

5 Al respecto, existen varios estudios que demuestran la capacidad fungicida, larvicida e insecticida del  
6 aceite esencial del género *Tagetes* (Politi et al., 2016; Andreotti et al., 2013; Hooks et al., 2010). También  
7 otros estudios con extractos de diferentes plantas diferentes al género *Tagetes* han demostrado un efecto  
8 antibacteriano contra *R. solanacearum*, así, Bay et al. (2016), demostraron que el eugenol, un compuesto  
9 del extracto etanólico de flores de *Syringa oblata* inhibe significativamente el crecimiento de *R.*  
10 *solanacearum* (radio de inhibición de 18,50 mm). Muy similar al radio de inhibición encontrado en  
11 nuestro trabajo (diámetro 16 mm con el AE). Del mismo modo, Li y colaboradores, (Li et al., 2014)  
12 usando Lansiumamide B, el cual es aislado de semillas de *Clausena lansium* demostró que este compuesto  
13 inhibe completamente el crecimiento de *R. solanacearum* a concentración de 125 mg/L in vitro. Estos y  
14 otros estudios muestran la sensibilidad de *R. Solanacearum* a diferentes compuestos de origen vegetal.  
15 En nuestro trabajo y por primera vez hasta donde se conoce, se describe el efecto antibacteriano del  
16 extracto metanólico de flores y del aceite esencial de *T. patula* contra *R. solanacearum* raza 2.

17

18 *T. patula* (Asteraceae) es una hierba perenne anual que pertenece a la familia de las Asteraceae. Algunos  
19 componentes de los extractos y del aceite esencial de *T. patula* se han descrito previamente (Politi et al.,

1 2016; Prakash et al., 2012; Xu et al., 2012), estos componentes son similares a los encontrados en el  
2 presente estudio como ya se ha mencionado. Estos compuestos son biológicamente activos y  
3 potencialmente alelopáticos contra diversos patógenos.

4  
5 Aunque el rol de cada uno de los compuestos no se ha identificado plenamente, se conoce por ejemplo,  
6 que los flavonoides y los terpenoides tienen potente actividad anti bacterial; nuestros resultados muestran  
7 que el extracto metanólico de flores y el aceite esencial de *T. patula*, son ricos en flavonoides y  
8 terpenoides, de estos últimos la piperitona y la verbenona fueron fue los más abundantes en el aceite  
9 esencial (40,4 y 19,98 % respectivamente), a estos compuesto se les han atribuido una importante  
10 actividad antimicrobiana, específicamente bactericida, así, Brahmi y colaboradores encontraron, que el  
11 principal componente del aceite esencial de *Mentha rotundifolia* L. fue la el epóxido de trans-Piperitona  
12 (30,2%) y el óxido de piperitona (8,7%), y este aceite esencial logró la inhibición del crecimiento de  
13 diversas bacterias (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) entre otras (Brahmi et al., 2016).  
14 Mientras Scollard et al. (2016) Encontró que la *verbenona* inhibe el crecimiento de *Listeria*  
15 *monocytogenes*.

16 Sin embargo, en el presente estudio no se evaluaron el efecto de estos compuestos individuales por lo que  
17 solo se puede sugerir que tales componentes o una mezcla de ellos pueden ser responsables de la  
18 capacidad de inhibición de *R. solanacearum*, señalando la necesidad de seguir profundizando en los  
19 componentes del aceite esencial y sus efectos sobre esta bacteria.

20

## 21 **CONCLUSIONES**

22

23 El EMF posee la mayor capacidad captadora de radicales libres (DPPH) comparado con el AE  
24 posiblemente relacionado con su mayor contenido de fenoles, lo que lo muestra como un potencial  
25 candidato para desarrollar medicamentos contra el estrés oxidativo. El extracto metanólico de flores de *T.*  
26 *patula* tiene un alto contenido en flavonoides y terpenoides. Mientras la composición del aceite esencial

1 de hojas y flores mostró un alto contenido de piperitona y verbenona. Tanto el EMF como el AE  
2 inhibieron el crecimiento bacteriano, pero el AE fue más efectivo. Basados en los resultados de este  
3 trabajo, el extracto metanólico de flores y aceite esencial de flores y hojas de *T. patula* puede ser una  
4 opción para el control *R. solanacearum* raza 2.

## 5 **FINANCIACION**

6  
7 Este trabajo fue financiado por el Departamento Administrativo de Ciencia y Tecnología de Colombia  
8 (Colciencias); el Banco Interamericano de Desarrollo (BID) contrato # 1113-545-31135, RC 551 of 2012  
9 y la Universidad del Quindío (proyecto interno #582) y el programa de jóvenes investigadores de  
10 Colciencias 2014.

11

## 12 **LITERATURA CITADA**

13

14 Al Dhaheri, Y.; Eid, A.; AbuQamar, S.; Attoub, S.; Khasawneh, M.; Aiche, G.; Iratni, R. 2013. Mitotic  
15 Arrest and Apoptosis in Breast Cancer Cells Induced by *Origanum majorana* Extract: Upregulation  
16 of TNF- $\alpha$  and Downregulation of Survivin and Mutant p53. *PLoS ONE*, 8(2), 1–14.

17 Andreotti, R.; Garcia, M. V.; Cunha, R. C. y Barros, J. C. 2013. Protective action of *Tagetes minuta*  
18 (Asteraceae) essential oil in the control of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari:  
19 Ixodidae) in a cattle pen trial. *Veterinary Parasitology*, 197(1–2), 341–5.

20 Bai, W.; Kong, F.; Lin, Y. y Zhang, C. 2016. Extract of *Syringa oblata*: A new biocontrol agent against  
21 tobacco bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*,  
22 134, 79–83.

23 Brahmi, F.; Abdenour, A.; Bruno, M.; Silvia, P.; Alessandra, P.; Danilo, F. y Mohamed, C. 2016.  
24 Chemical composition and *in vitro* antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the  
25 essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* L. Huds growing in Algeria. *Industrial*  
26 *Crops and Products*, 88, 96–105.



- 1 Carvajal-Rojas, L.; Hata-Uribe, Y.; Sierra-Martinez, N. y Rueda-Niño, D. 2009. Preliminary  
2 phytochemical analysis of Cupatá (*Strychnos schultesiana* krukoff) stems and seeds. *Revista Colombia*  
3 *Forestal*, 12, 161–170.
- 4 Ceballos, G.; Álvarez, E. y Bolaños, M. M. 2014. Reducción de poblaciones de *Ralstonia solanacearum*  
5 raza 2 (Smith) en plátano (*Musa* AAB Simmonds) con aplicación de extractos de *Trichoderma* sp.  
6 (*Alexopoulus* y Mims) y bacterias antagonistas. *Acta Agronomica*, 63(1).
- 7 Guha, G.; Rajkumar, V.; Ashok Kumar, R. y Mathew, L. 2010. Aqueous extract of *Phyllanthus amarus*  
8 inhibits chromium(VI)-induced toxicity in MDA-MB-435S cells. *Food and Chemical Toxicology* :  
9 An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 48(1),  
10 396–401.
- 11 Hooks, C. R. R.; Wang, K.-H.; Ploeg, A. y McSorley, R. 2010. Using marigold (*Tagetes spp.*) as a cover  
12 crop to protect crops from plant-parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*, 46(3), 307–320.
- 13 Kazibwe, Z.; Kim, D.-H.; Chun, S. y Gopal, J. 2017. Ultrasonication assisted ultrafast extraction of  
14 *Tagetes erecta* in water: cannonding antimicrobial, antioxidant components. *Journal of Molecular*  
15 *Liquids*, 229, 453–458.
- 16 Kheirandish, Z. y Harighi, B. 2015. Evaluation of bacterial antagonists of *Ralstonia solanacearum*, causal  
17 agent of bacterial wilt of potato. *Biological Control*, 86, 14–19.
- 18 Kyarimpa, C. M.; Böhmendorfer, S.; Wasswa, J.; Kiremire, B. T.; Ndiege, I. O. y Kabasa, J. D. 2014.  
19 Essential oil and composition of *Tagetes minuta* from Uganda. Larvicidal activity on *Anopheles*  
20 *gambiae*. *Industrial Crops and Products*, 62, 400–404.
- 21 Li, L.; Feng, X.; Tang, M.; Hao, W.; Han, Y.; Zhang, G. y Wan, S. 2014. Antibacterial activity of  
22 *Lansiumamide B* to tobacco bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Microbiological Research*,  
23 169(7–8), 522–6.
- 24 Liu, L.; Sun, C.; He, X.; Liu, X.; Wu, H.; Liu, M. y Zhang, Y. 2016. The secondary compost products  
25 enhances soil suppressive capacity against bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia*  
26 *solanacearum*. *European Journal of Soil Biology*, 75, 70–78.

- 1 Politi, F. A. S.; Queiroz-Fernandes, G. M.; Rodrigues, E. R.; Freitas, J. A. y Pietro, R. C. L. R. 2016.  
2 Antifungal, antiradical and cytotoxic activities of extractives obtained from *Tagetes patula* L.  
3 (Asteraceae), a potential acaricide plant species. *Microbial Pathogenesis*, 95, 15–20.
- 4 Prakash, O.; Rout, P. K.; Chanotiya, C. S. y Misra, L. N. 2012. Composition of essential oil, concrete,  
5 absolute and SPME analysis of *Tagetes patula* capitula. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 195–  
6 199.
- 7 Raut, J. S. y Karuppayil, S. M. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils.  
8 *Industrial Crops and Products*, 62, 250–264.
- 9 Scollard, J.; McManamon, O. y Schmalenberger, A. 2016. Inhibition of *Listeria monocytogenes* growth on  
10 fresh-cut produce with thyme essential oil and essential oil compound verbenone. *Postharvest*  
11 *Biology and Technology*, 120, 61–68.
- 12 Stagos, D.; Portesis, N.; Spanou, C.; Mossialos, D.; Aligiannis, N.; Chaita, E. y Kouretas, D. 2012.  
13 Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts  
14 from Greek domestic Lamiaceae species. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11), 4115–4124.
- 15 Torres, E. L.; Vigil, A. L.-M. y Morales, M. E. S. 2013. Extracción, composición y caracterización de los  
16 aceites esenciales de hoja y semilla de cilantro (*Coriandrum sativum*). *Temas Selectos de Ingeniería*  
17 *En Alimentos*, 7(1), 97–103.
- 18 Umar, S.; Sharma, M. P.; Khan, W. y Ahmad, S. 2017. Variation in ornamental traits, physiological  
19 responses of *Tagetes erecta* L. and *T. patula* L. in relation to antioxidant and metabolic profile under  
20 deficit irrigation strategies. *Scientia Horticulturae*, 214, 200–208.
- 21 Xu, L.; Chen, J.; Qi, H. y Shi, Y. 2012. Phytochemicals and Their Biological Activities of Plants in  
22 *Tagetes* L. *Chinese Herbal Medicines*, 4(2), 103–117.