

ARTÍCULO ORIGINAL

Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Pimpinella anisum* L.

Oriela Pino^I, Yaíma Sánchez^I, Miriam M. Rojas^I, Yudith Abreu^I, Teresa M. Correa^{II}

^IGrupo de Plagas Agrícolas, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. Correo electrónico: oriela@censa.edu.cu; ^{II}Laboratorio Anti-Doping, Instituto de Medicina Deportiva (IMD). 100 y Aldabó, Boyeros, La Habana, Cuba

RESUMEN: Los aceites esenciales son productos que se destacan por su rápido desarrollo y múltiples posibilidades de aplicación en la agricultura. Desde el punto de vista fitosanitario existe una demanda creciente de nuevos antimicrobianos, situación evidente para bacterias como *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Doidge (Dye). El objetivo de este trabajo fue establecer las potencialidades del aceite esencial de *Pimpinella anisum* L. como candidato para el desarrollo de nuevos antibacterianos para el control de *X. campestris* pv. *vesicatoria*. El aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación, se determinó su rendimiento y su composición química se investigó por CG/EM. Se realizó la evaluación antibacteriana por difusión en agar y se determinaron las concentraciones mínima inhibitoria y mínima bactericida por la técnica de diluciones seriadas. Se determinó la actividad reguladora del crecimiento del aceite bioactivo en placas Petri sobre tomate. El aceite esencial de anís, rendimiento 0,8 % (v/p), se caracterizó por la presencia de metil chavicol como componente mayoritario. La esencia de *P. anisum* mostró un efecto bactericida elevado (CMI y CMB=0,05%). El aceite de *P. anisum* no afectó la germinación de las semillas, ni el crecimiento de las plántulas de tomate por los tratamientos de adición al sustrato e inmersión durante un minuto, por lo cual su aplicación práctica podría ser por incorporación al sustrato y/o por tratamiento de la semilla. El aceite esencial de *P. anisum*, por su rendimiento, eficacia y no fitotoxicidad, es un candidato promisorio para el desarrollo de plaguicidas destinados al control de *X. campestris* pv. *vesicatoria*.

Palabras clave: *Pimpinella anisum*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, plaguicida botánico, aceite esencial, metil chavicol.

Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Pimpinella anisum* L.

ABSTRACT: Essential oils stand out for their rapid development as products and multiple applications in agriculture. From the phytosanitary point of view, there is a growing demand for new antimicrobials, and the situation becomes evident for bacteria as *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Doidge (Dye). The aim of this work was to find out the potential of the essential oil obtained from *Pimpinella anisum* L. as a candidate for the development of a new antibacterial product to control *X. campestris* pv. *vesicatoria*. The essential oil was obtained by hydrodistillation and its yield determined. The chemical composition was investigated by GC/MS. Antibacterial assessment was conducted using agar diffusion and MIC and MBC determined by serial dilution. The growth regulation activity was studied in tomato using the Petri dish test. The essential oil of *P. anisum*, yield of 0,8%, (v/w), was characterized by the presence of methyl chavicol as the main component. A high bactericidal action (MIC and MBC=0,05%) was observed with no effect on seed germination or plantlet growth when the oil was added to the substrate and/or by seed immersion during 1 minute suggesting that its practical application could be through its incorporation to the substrate and/or the seed treatment. Considering its yield, efficacy and no phytotoxicity, the essential oil of *P. anisum* is a promising candidate for the development of pesticides aimed at controlling *Pimpinella anisum* L. pv. *vesicatoria*.

Key words: *Pimpinella anisum*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, botanical pesticide, essential oil, methyl chavicol.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales, obtenidos a partir de plantas aromáticas y medicinales, se utilizan ampliamente como alimentos, medicamentos, agentes conservantes, entre otras aplicaciones (1). Estos productos se destacan por su rápido desarrollo y múltiples posibilidades de aplicación en la agricultura. En correspondencia la agroindustria asociada a la producción de estas sustancias naturales posee un desarrollo importante; la industria de aromas y fragancias ha mostrado crecimientos anuales del 10% a nivel mundial y se considera puede activar el desarrollo rural (2).

Pimpinella anisum L., popularmente conocido como anís, anís verde o matalahúva, es una hierba aromática de la familia *Apiaceae* originaria del Asia sudoccidental y la cuenca mediterránea oriental. Sus semillas se utilizan como condimento y en la elaboración de licores (3). Como planta medicinal, se usa como antipirético, antiparasítico, antifúngico y para trastornos digestivos, en forma de polvo, infusión, tintura y jarabes (1). Extractos metanólicos y acuosos mostraron actividad potente frente a bacterias patógenicas y se sugiere considerar su uso como una alternativa para sustituir antibióticos, especialmente en la alimentación animal (3).

El aceite esencial del fruto tiene efectos anticonvulsivos y relajantes, se emplea en el tratamiento de algunas enfermedades como la epilepsia (3). También, se utiliza como antiparasitario en veterinaria (1). Esta esencia mostró actividad insecticida y acaricida (4). El aceite esencial de anís presenta efecto antibiótico frente a bacterias y hongos patógenos que afectan al hombre y los animales (5); sin embargo, su actividad frente a microorganismos fitopatógenos es un campo menos estudiado.

Desde el punto de vista fitosanitario, la demanda creciente de nuevos antimicrobianos responde a la poca disponibilidad y/o eficacia de los productos existentes para el control de algunos patógenos. Esta situación es evidente para bacterias como *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Doidge (Dye), agente causal de la enfermedad conocida como mancha bacteriana, cuya constante incidencia y severidad es una de las limitantes que se presentan en la producción de *Solanum lycopersicum* L. (tomate) (6). Las recomendaciones tradicionales para controlar esta enfermedad son las aplicaciones a base de cobre y formulaciones de cobre combinadas con Mancozeb o estreptomina; sin embargo, su control no ha sido del todo satisfactorio.

En este contexto, el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) ha venido investigando un grupo de aceites esenciales como fuente de antimicrobianos

para el control de enfermedades en diferentes cultivos. El objetivo de este trabajo fue establecer las potencialidades del aceite esencial de *Pimpinella anisum* como candidato para el desarrollo de nuevos antibacterianos para el control de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las hojas de *P. anisum* se recolectaron en Jagüey Grande, Matanzas; en agosto de 2010. El aceite esencial se extrajo por hidrodestilación con equipo Clevenger durante tres horas (7). Posteriormente se secó sobre sulfato de sodio y se almacenó a 8°C. Se calculó el rendimiento del aceite esencial mediante la expresión:

$R = (V/M) * 100$; donde: R: rendimiento (%), V: volumen del aceite esencial (mL) y M: masa del material vegetal (g).

La composición química del aceite se determinó por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas, en un cromatógrafo de gases de la serie Agilent 6890 con un inyector del tipo «split splitless» (relación de split 20:1) acoplado con un espectrómetro de masas de la serie Agilent 05973; ambos provenientes de la firma Agilent Technologies. Se utilizó una columna capilar SPB-5 (L=15m; DI=0,25mm; f=0,10mm) con una inyección de 2 µL. La temperatura del horno fue programada: 60°C (2 min isotérmicos), seguido de una rampa de calentamiento hasta 100°C a razón de 4°C.min⁻¹, otra rampa de 10°C.min⁻¹ desde 100°C hasta 250°C donde finalmente permaneció durante 5 min isotérmicos. Se usó Helio como gas portador con un flujo constante de 1,0 mL.min⁻¹. El espectrómetro de masas trabajó en modo scan de adquisición a 70eV. Se utilizó un analizador cuadrupolar a 150°C de temperatura del cuadrupolo, el detector trabajó en un rango de masas de hasta 800 uma, las temperaturas de la interfase y de la fuente fueron 280°C y 230°C respectivamente. La identificación de los compuestos se realizó mediante el uso combinado de las bases de datos automatizadas NBS-NISTASCI y Wiley 275 y el Atlas Registry of Mass Spectra Data.

Para determinar la actividad antimicrobiana se empleó la bacteria fitopatógena *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Doidge (Dye), perteneciente al cepario del Laboratorio de Bacteriología Vegetal del CENSA. La bacteria se sembró en placas de medio Agar Nutriente por agotamiento y se incubó a 28°C durante 48 horas. Una vez crecida, se preparó una suspensión bacteriana, a una concentración de inóculo de aproximadamente 1×10^9 UFC.mL⁻¹ ($DO_{540nm} = 1$). De este inóculo se tomaron 20µL y se sembraron en placas de medio Agar Nutriente por diseminación con espátula de Drigalski.

Para evaluar la sensibilidad de este microorganismo al aceite esencial se empleó la técnica de difusión en agar (8), basada en el método de Kirby-Bauer. En cada placa, cuatro discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro se depositaron de forma equidistante sobre el medio inoculado con las suspensiones bacterianas. Posteriormente, a dos de los discos se les añadió el aceite esencial (10; 5; 2,5 μL a cada disco) y los otros dos discos se emplearon como controles negativos. Como control positivo de inhibición del crecimiento se utilizaron discos impregnados con Kanamicina (10 μg .disco⁻¹) (MINSAP). Para cada tratamiento (aceites, antibiótico) se utilizaron dos placas. La temperatura y el tiempo de incubación empleados fueron los descritos previamente. Una vez transcurrido el tiempo correspondiente se midió el diámetro del halo de inhibición (d_{hi} , mm) del crecimiento bacteriano. La actividad del aceite se clasificó en marcada ($d_{hi} \geq 16\text{mm}$), moderada ($12\text{mm} \leq d_{hi} < 16\text{mm}$), ligera ($8\text{mm} \leq d_{hi} < 12\text{mm}$) o sin actividad ($d_{hi} < 8\text{mm}$), según los rangos de la escala utilizada por Toda *et al.* (9).

Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y concentraciones mínimas bactericidas (CMB) se determinaron mediante el método de las diluciones seriadas en medio caldo nutriente. Al medio preparado se le adicionó DMSO 2,5% para facilitar la solubilización del aceite. Las concentraciones de aceite evaluadas fueron 0,4%; 0,2%; 0,1%; 0,05% y 0,025%; la prueba se realizó por triplicado y se incluyeron dos controles de crecimiento bacteriano, uno contenía DMSO 2,5% y medio de cultivo y el otro solo el medio de cultivo. Los tubos con las diluciones de los aceites se inocularon con la suspensión de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. La concentración del inóculo empleada en este experimento, fue igual a la referida anteriormente. Se incubaron a 28°C y se determinó la concentración mínima inhibitoria del crecimiento (CMI) después de 48 h. La CMI se estableció como la concentración más baja del aceite que inhibió el crecimiento visible del microorganismo después de la incubación. En aquellos casos donde se observó inhibición se tomó una asada y se sembró en una placa que contenía el medio específico, caldo nutriente libre del agente antimicrobiano. La más baja concentración de la muestra capaz de producir daño letal en la célula microbiana se definió como la concentración mínima bactericida (CMB).

El efecto regulador del crecimiento del aceite se determinó mediante ensayos *in vitro* con semillas de *Solanum lycopersicum* L. (tomate, variedad Amalia). En cada placa Petri se colocaron 30 semillas sobre papel de filtro previamente humedecido. La aplicación de la solución acuosa del aceite (concentración 0,05%)

se realizó empleando tres variantes experimentales:

- tratamiento de las semillas por inmersión durante 1 minuto en la solución acuosa del aceite y aplicación de 6 mL de agua destilada al papel de filtro,
- tratamiento de las semillas por inmersión durante 1 hora en la solución acuosa del aceite y aplicación de 6 mL de agua destilada al papel de filtro,
- aplicación de 6 mL de la solución acuosa del aceite al papel de filtro,

En cada caso se utilizó un grupo control tratado con agua destilada. Para cada variante experimental se emplearon cuatro réplicas. Se realizó el conteo del número de semillas germinadas y el cálculo de los porcentajes de germinación (G) a los dos y siete días, tomando como indicador de germinación cuando la longitud de la radícula sobrepasó los 2 mm de longitud. Trascorridos siete días, también se realizó la medición directa de las longitudes de las radículas (L_{rad}) e hipocotilos (L_{hip}) de cada semilla germinada para cada uno de los grupos. Además, para cada placa se determinó el peso de materia seca de las semillas empleando una balanza infrarroja (10). Los datos experimentales obtenidos se procesaron estadísticamente mediante un análisis de varianza de clasificación simple, y las medias se compararon mediante la prueba de comparación de rangos múltiples de Duncan a una probabilidad de error al 5% ($p < 0.05$), usando el paquete estadístico SAS 9.0 (11).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento del aceite esencial de anís fue de 0,8% (v/p); superior a 0,1%, valor de rendimiento considerado como límite mínimo para proponer la explotación comercial de un aceite (12). Los rendimientos de la esencia de anís oscilan entre 2 y 3% a partir de frutos maduros (13), valores superiores al obtenido para este aceite en el presente trabajo. La variabilidad del rendimiento puede asociarse a diferencias en el clima, suelo, método de cultivo, época de recolección y parte de la planta recolectada, manejo y almacenamiento del material vegetal, edad y estado fenológico de la planta y método de obtención del aceite, entre otros factores (14, 15). El aceite esencial de anís que se comercializa a nivel mundial es producido a partir de frutos y semillas (13); su obtención a partir de las hojas permite ampliar la utilización de esta especie cultivable mediante la diversificación de las partes de la planta empleadas como materia prima.

La composición química del aceite de *P. anisum* se presenta en la Tabla 1. En este aceite se identificaron 6 componentes que representan el 98,73 % de su composición relativa.

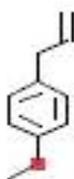
TABLA 1. Composición química del aceite esencial de *Pimpinella anisum*./ *Chemical composition of Pimpinella anisum essential oil.*

Pico	t _r (min)	Abundancia relativa (%)*	Identificación
1	2,67	0,11	canfeno
2	6,27	0,11	linalol
3	10,57	97,76	metil chavicol
4	13,92	0,19	4-ciclopropil-2-metoxifenol
5	14,71	0,12	β-cariofileno
6	15,75	0,44	germacreno-D

t_r (tiempo de retención)

*Se presenta la identificación de los compuestos presentes en el aceite con una abundancia relativa mayor que 0,1%.

El aceite esencial de anís se caracteriza por estar compuesto fundamentalmente por metil chavicol (97,76%) (Figura 1). El resto de los componentes identificados fueron monoterpenos y sesquiterpenos.



metil chavicol (estragol)

FIGURA 1. Componente mayoritario del aceite esencial de *Pimpinella anisum*./ *Main component of Pimpinella anisum essential oil.*

La mayor parte de los trabajos relacionados con la composición del aceite esencial de *P. anisum* se refieren a los aceites obtenidos de los frutos y semillas de la planta. Estos aceites están constituidos por *trans*-anetol como componente mayoritario, en un porcentaje entre 80 a 95%, seguido por el éter metil chavicol (estragol), anisalaldehído, *cis*-anetol, entre otros (5). Nuestros resultados difieren de los encontrados en estos trabajos previos en relación con la prevalencia del metil chavicol en el aceite de *P. anisum*, lo cual puede deberse a que el aceite se obtuvo de las hojas y no de los frutos o semillas de la planta empleados en los otros estudios.

Los resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana de los aceites frente a *X. campestris pv vesicatoria* se presentan en la Tabla 2.

TABLA 2. Inhibición del crecimiento de *Xanthomonas campestris pv vesicatoria* provocada por diferentes dosis del aceite esencial de *Pimpinella anisum*./ *Growth inhibition of Xanthomonas campestris pv vesicatoria caused by different doses of Pimpinella anisum essential oil.*

Tratamiento	Cantidad/disco	Halo de inhibición (mm) (clasificación según Toda <i>et al.</i> , (9))
Aceite esencial de <i>Pimpinella anisum</i>	10 µL	90,0 (inhibición total)
	5 µL	90,0 (inhibición total)
	2,5 µL	13,5 (moderada)
Kanamicina	10 µg	20,3 (marcada)

El aceite de anís al aplicar 10 y 5 µL produjo una inhibición total del crecimiento y no la formación de halos de inhibición alrededor del disco, mientras que al añadir 2,5 µL mostró una actividad moderada. Esta esencia mostró un efecto superior al del antibiótico utilizado como control.

Extractos acuosos e hidroalcohólicos y el aceite de *P. anisum* poseen actividad antibacteriana frente a *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (3, 5). En la literatura no se encontró información sobre la actividad antibacteriana del aceite de anís frente a la bacteria fitopatógena *X. campestris pv vesicatoria*, por lo cual los resultados obtenidos aumentan el conocimiento sobre la actividad biológica de *P. anisum* y las posibilidades de aplicación práctica de su aceite esencial.

En la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB), el aceite produjo un daño letal sobre la célula microbiana a una concentración de 0,05%, coincidiendo los valores de CMI y CMB obtenidos. En estudios realizados por Kosalec *et al.* (5) el aceite esencial obtenido a partir de frutos de esta planta mostró un fuerte efecto biológico frente a levaduras y hongos dermatofitos, con valores de CMI en los rangos 0,1 a 1,56% (v/v) y 0,1 a 0,78% (v/v) respectivamente. La

actividad bactericida evidenciada en las condiciones de nuestro estudio es más elevada.

Las diferencias en los valores de CMI pueden estar asociadas a desiguales susceptibilidades de los microorganismos dianas, y también ser explicadas por las variaciones en la composición cualitativa de los aceites y las concentraciones de los compuestos bioactivos del aceite esencial de anís. El aceite estudiado en nuestro trabajo posee una mayor abundancia relativa de metil chavicol que el obtenido por Kosalec *et al.* (5), compuesto al que pudiera atribuirse el efecto biológico observado.

Aunque, se reconoce que en mezclas de compuestos como los aceites esenciales la interacción entre los componentes resulta importante en la determinación de la actividad biológica y el efecto se puede ejercer por la acción aditiva o sinérgica de varios constituyentes sobre uno o múltiples sitios diana (16). Se plantea incluso, que algunos compuestos que no presentan actividad antimicrobiana de manera independiente, incrementan la acción cuando se mezclan con otros (17).

Considerando la gran variedad de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, es muy probable que su actividad antimicrobiana no sea atribuible ni a un compuesto ni a un mecanismo específico, sino a la acción combinada de varios de ellos sobre distintos orgánulos de la célula (18, 19). El mecanismo de acción de estos compuestos aún hoy no ha sido claramente caracterizado (18).

Uno de los principales mecanismos de acción propuestos para los terpenoides consiste en la disrupción de la membrana celular bacteriana mediante 3 posibles vías: aumentando la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectando la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, cualquiera de estos 3 efectos produce la muerte en la célula bacteriana (20; 21). Kaya *et al.*, (21) observaron, empleando Microscopía Electrónica de Barrido, células de microorganismos no tratadas y tratadas con extractos de *Ocimum basilicum*; las células tratadas estaban dañadas, se apreciaron alteraciones morfológicas y se produjo la degradación de la pared celular.

Por otro lado, aunque componentes frecuentes de los aceites esenciales, como los monoterpenos, poseen actividad biológica demostrada frente a fitopatógenos, son también los terpenoides inhibidores de crecimiento más abundantes identificados en las plantas superiores. Son conocidos por su potencial alelopático contra malezas y plantas de cultivo; entre los más frecuentes con actividad alelopática se pueden citar el alcanfor, α y β pineno y el 1,8-cineol (13).

La actividad bactericida y los rendimientos obtenidos del aceite esencial de *P. anisum* indican que esta esencia puede ser considerada un ingrediente activo promisorio para el desarrollo de un plaguicida botánico. La utilización práctica de este aceite en el control de la mancha bacteriana podría ejecutarse mediante el tratamiento de las semillas y/o por aplicación al suelo. Considerando la posibilidad de existencia de una actividad reguladora del crecimiento, es necesario determinar el efecto que tendrían estos posibles tratamientos sobre la germinación y el desarrollo; seleccionándose el tomate como diana del estudio por ser una de las especies cultivables afectada por *X. campestris* pv *vesicatoria*.

Los ensayos de germinación y los de crecimiento de plántulas *in vitro* son ampliamente utilizados debido a que son sencillos y permiten una evaluación rápida de la respuesta de una especie vegetal a una sustancia determinada. En la Tabla 3 se muestra el efecto sobre la germinación, transcurridos los dos primeros días, de las soluciones del aceite esencial aplicadas al sustrato y por inmersión. Los tratamientos por inmersión de la semilla no produjeron variaciones en el porcentaje de germinación en relación con los controles correspondientes, para ninguno de los dos tiempos de inmersión empleados. Sin embargo, cuando el aceite es aplicado al sustrato se induce la germinación en un tiempo menor y el porcentaje de germinación del grupo tratado es superior al del control correspondiente.

TABLA 3. Influencia en el porcentaje de germinación de los tratamientos de inmersión e incorporación al sustrato del aceite esencial de *Pimpinella anisum*. / Influence of immersion and substrate addition treatments with *Pimpinella anisum* essential oil on germination percentage.

Tratamiento		G (%)*
Inmersión 1min	aceite	15 ab
	control	14 ab
Inmersión 60 min	aceite	12 a
	control	14 ab
Sustrato	aceite	16 b
	control	12 a

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

*Tiempo de evaluación de 2 días.

En la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos en la evaluación del efecto regulador del crecimiento. Transcurridos 7 días, el aceite esencial de anís (a la concentración de 0,05%) demostró tener un efecto bactericida frente a *X. campestris* pv *vesicatoria*). El

TABLA 4. Efecto regulador del crecimiento del aceite esencial de *Pimpinella anisum* sobre tomate./ *Growth regulating effect of Pimpinella anisum essential oil on tomato.*

Tratamiento		G* (%)	L _{rad} * (mm)	L _{hio} * (mm)	Materia seca* (g)
Inmersión 1min	aceite	83a	72,53a	33,43a	0,07a
	control	84a	67,73a	32,89a	0,06a
Inmersión 60 min	aceite	80a	69,15a	30,76a	0,06a
	control	89b	78,75b	31,98a	0,06a
Sustrato	aceite	85a	77,15b	35,47b	0,06a
	control	83a	56,94a	25,77a	0,07a

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

*Tiempo de evaluación de 7 días.

tratamiento por inmersión durante 1 min no produjo alteraciones en ninguno de los parámetros evaluados; sin embargo cuando el tiempo de inmersión fue de 60 minutos se inhibió la germinación y el crecimiento de la radícula. Al aplicar la solución del aceite al sustrato aunque no se afectaron la germinación, ni el peso de materia seca si se obtuvieron valores superiores de longitudes de radícula e hipocotilo en comparación con el control.

Partiendo de estos resultados se puede recomendar la aplicación del aceite en la desinfección de las semillas por inmersión durante un minuto. La aplicación al sustrato puede contribuir al control de la bacteria y propiciaría además una germinación más rápida de las semillas y la obtención de plántulas con un mayor desarrollo radicular. La aplicación práctica del aceite esencial de anís para el control de *X. campestris* pv *vesicatoria* puede llevarse a cabo tanto tratando la semilla como incorporándolo al suelo.

La Mancha Bacteriana es una de las enfermedades más importantes en los cultivos de tomate y pimiento que afecta tanto plántulas como plantas adultas dañando hojas, pecíolos, tallos y frutos, manifestándose los efectos de la enfermedad en la disminución de la producción y la calidad de los frutos; hasta el momento, las medidas fitosanitarias utilizadas para su control no resultan efectivas (6).

El aceite esencial de *Pimpinella anisum*, por su rendimiento, eficacia y no fitotoxicidad, es un candidato promisorio para el desarrollo de plaguicidas destinados al control de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Este aceite puede constituir un punto de partida para el desarrollo futuro de antimicrobianos destinados al control de otras enfermedades en cultivos de importancia económica.

REFERENCIAS

- Noorizadeh H, Farmany A, Noorizadeh M. Application of GA-PLS and GA-KPLS calculations for the prediction of the retention indices of essential oils. *Quim Nova*. 2011;34(8):1398-1404.
- Castañeda ML, Muñoz A, Martínez JR, Stashenko E. Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas. *Scientia et Técnica*. 2007;XIII(033):165-166.
- Akhtar A, Deshmukh AA, Bhonsle AV, Kshirsagar PM, Kolekar MA. *In vitro* antibacterial activity of *Pimpinella anisum* fruit extracts against some pathogenic. *Veterinary World*. 2008;1(9):272-274.
- Mendoza Meza DL, Manuel Taborda. Composición química y actividad acaricida del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* Stapf contra el ácaro intradomiciliario *Dermatophagoides farinae* (Acari:Pyroglyphidae). *Biosalud*. 2010;9(2):21-31.
- Shojaii A, Fard MA. Review of Pharmacological Properties and Chemical Constituents of *Pimpinella anisum*. *ISRN Pharmaceutics*. 2012; 1-8.
- Schulz S, Büttner Daniela. Functional Characterization of the Type III Secretion Substrate Specificity Switch Protein HpaC from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Infect Immun*. 2011;79(8):2998-3011.
- Pino O, Sánchez Y, Rojas MM, Rodríguez H, Abreu Y, Duarte Y, et al. Composición química y actividad

- plaguicida del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake. *Rev Protección Veg.* 2011;26(3):177-186.
8. Al-Bayati FA. Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. 2009;8:20.
 9. Toda M, Okubo S, Mara Y, Shimamura T. Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Jap J Bacteriol.* 1991;46(5):845-849.
 10. Caamal-Maldonado JA. The use of allelopathic legume cover and mulch species for weed control in cropping systems. *Agronomy Journal.* 2001;93(1).
 11. S.A.S: Institute Statistical Analysis software SAS. Version 9.0. Cary N C, USA. 2002.
 12. Joulain D. Investigating New Essential Oils: Rationale, Results and Limitations. *Perfumer & Flavorist.* 1996;21:1-10.
 13. Olle M, Bender I. The content of oils in umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research.* 2010;8(Special Issue III):687-696.
 14. Pavela R, Sajfritová Marie, Sovová Helena, Bárnet Martin. The insecticidal activity of *Satureja hortensis* L. extracts obtained by supercritical fluid extraction and traditional extraction techniques. *Appl Entomol Zool.* 2008;43(3):377-382.
 15. Geng Shilei, Cui Z, Huang X, Chen Y, Xu D, Xiong P. Variations in essential oil yield and composition during *Cinnamomum cassia* bark growth. *Industrial Crops and Products.* 2011;33(1):248-252.
 16. Al-Bayati FA. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology.* 2008;116:403-46.
 17. Campbell BC, Chan KL, Kim JH. Chemosensitization as a means to augment commercial antifungal agents. *Front Microbiol.* 2012;3:79-92.
 18. Guerra Ordóñez M, Rodríguez Jorge M, García Simón G. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). *Stapf Rev Cubana Plant Med.* 2004;9(2).
 19. Fabio A, Cermelli C, Fabio G, Nicoletti P, Quaglio P. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. *Phytother Res.* 2007;21:374-377.
 20. Maguna FP, Romero AM, Garro OA, Okulik NB. Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. Facultad de Agroindustrias, UNNE, Argentina. 2006. (Comunicaciones Científicas y Tecnológicas en Internet). Consultado: 9 Oct 2008. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/>.
 21. Kaya I, Yigit N, Benli M. Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Ocimum basilicum* L. and Observation of the Inhibition Effect on Bacterial Cells by Use of Scanning Electron Microscopy. *Afr J Traditional and Alternative Medicine.* 2008;5(4):363-369.

Recibido: 31-10-2011.

Aceptado: 31-7-2012.