



EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE ACEITES ESENCIALES FENÓLICOS CONTRA *Erwinia amylovora* (Burrill) RESISTENTE A ESTREPTOMICINA

In vitro EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PHENOLIC ESSENTIAL OILS AGAINST STREPTOMYCIN-RESISTANT *Erwinia amylovora* (Burrill)

Daniel Triana Anzures¹, Nora Aideé Salas Salazar^{2a*}, Celia Chávez Mendoza³, Mayra Cristina Soto Caballero^{2b}, María Antonia Flores Córdoba^{2c}, María Janeth Rodríguez Roque⁴ y Carlos Acosta Muñiz⁵

¹ Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, Universidad Autónoma de Chihuahua (FCAYF- UACH), Km. 2.5 carretera Delicias - Rosales, Delicias, Chihuahua, México
<https://orcid.org/0009-0006-3362-7610>

^{2a} Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua (FACIATEC-UACH) campus Cuauhtémoc, Presa de La Amistad (2015), Chihuahua, México
<https://orcid.org/0000-0001-8002-4878>

^{2b} Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua (FACIATEC-UACH) campus Cuauhtémoc, Presa de La Amistad (2015), Chihuahua, México
<https://orcid.org/0000-0002-0360-9749>

^{2c} Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua (FACIATEC-UACH) campus Cuauhtémoc, Presa de La Amistad (2015), Chihuahua, México
mafloresc@uach.mx. <https://orcid.org/0000-0002-9654-8067>

³ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Av. Cuarta Sur (3820), Delicias, Chihuahua, México
<https://orcid.org/0000-0002-2136-591X>

⁴ Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, (FACIATEC-UACH), Av. Universidad y Pascual Orozco (s/n), Chihuahua, Chihuahua, México
<https://orcid.org/0000-0002-4682-4799>

⁵ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Av. Río Conchos (S/N) Cuauhtémoc, Chihuahua, México
<https://orcid.org/0000-0001-6329-3507>

* Autor para correspondencia: nsalas@uach.mx

RESUMEN

La mancha de fuego, causada por *Erwinia amylovora* (Burrill), representa una amenaza importante para la producción de manzano en México, especialmente por la aparición de cepas resistentes a antibióticos. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana de aceites esenciales (AE), ricos en compuestos fenólicos, como timol y carvacrol, frente a una cepa de *E. amylovora* resistente a estreptomicina (mutación K43R en rpsL, CMI $\geq 1\,000 \mu\text{g mL}^{-1}$), así como determinar su perfil de susceptibilidad a diferentes antibióticos. Se evaluaron nueve AE, obtenidos por destilación por arrastre de vapor e identificados mediante MicroScan autoSCAN-4. La actividad antimicrobiana se evaluó mediante difusión en disco en agar nutritivo a concentraciones de 25, 50, 75 y 100% (v/v). *Thymus vulgaris* al 100% presentó el mayor halo de inhibición ($36,5 \pm 0,62 \text{ mm}$), seguido de *Origanum vulgare* ($35,8 \pm 0,45 \text{ mm}$), *Lippia graveolens*, cultivado ($34,9 \pm 0,37 \text{ mm}$) y *L. graveolens* silvestre ($30,6 \pm 0,41 \text{ mm}$). En contraste, los AE de *Mentha piperita*, *Lavandula angustifolia*, *Ocimum*

basilicum, *Eucalyptus globulus* y *Citrus sinensis*, mostraron inhibiciones ≤ 18 mm. Los aceites más activos coincidieron con un mayor contenido de timol y carvacrol. El antibiograma mostró resistencia a penicilina, ampicilina y amoxicilina, y sensibilidad a gentamicina y tetraciclina. Estos resultados indican que los AE fenólicos poseen un potencial significativo para inhibir cepas resistentes de *E. amylovora* y sugieren que su integración con antibióticos convencionales podría contribuir al desarrollo de estrategias de manejo más efectivas en el control de la mancha de fuego.

Palabras clave: Fitopatógeno, sinergia, antibióticos, monoterpenos fenólicos, concentración mínima inhibitoria.

ABSTRACT

Fire blight, caused by *Erwinia amylovora* (Burrill), represents a major threat to apple production in Mexico, particularly due to the emergence of antibiotic-resistant strains. The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of essential oils (EOs) rich in phenolic compounds, such as thymol and carvacrol, against a streptomycin-resistant *E. amylovora* strain (K43R mutation in *rpsL*, MIC ≥ 1,000 µg mL⁻¹), and to determine its antibiotic susceptibility profile. Nine EOs obtained by steam distillation and characterized using the MicroScan autoSCAN-4 system were evaluated. Antimicrobial activity was assessed using the disk diffusion method on nutrient agar at concentrations of 25, 50, 75, and 100% (v/v). *Thymus vulgaris* at 100% showed the largest inhibition halo (36.5 ± 0.62 mm), followed by *Origanum vulgare* (35.8 ± 0.45 mm), cultivated *Lippia graveolens* (34.9 ± 0.37 mm), and wild *L. graveolens* (30.6 ± 0.41 mm). In contrast, EOs from *Mentha piperita*, *Lavandula angustifolia*, *Ocimum basilicum*, *Eucalyptus globulus*, and *Citrus sinensis* exhibited inhibition zones ≤ 18 mm. The most active EOs corresponded to those with higher thymol and carvacrol content. The antibiogram revealed resistance to penicillin, ampicillin, and amoxicillin, and sensitivity to gentamicin and tetracycline. These results indicate that phenolic essential oils have significant potential to inhibit resistant strains of *E. amylovora* and suggest that their integration with conventional antibiotics could contribute to the development of more effective management strategies for controlling fire blight.

Keywords: Phytopathogen, synergy, antibiotics, phenolic monoterpenes, minimum inhibitory concentration.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de manzano es una de las actividades agrícolas más importantes en México, debido a su valor económico y alta demanda comercial. En 2023 se produjeron 814.534 t, concentradas principalmente en Chihuahua, Coahuila y Puebla; sin embargo, esta producción sigue siendo insuficiente para abastecer el mercado nacional, lo que genera un fuerte incremento en las importaciones (SIAP, 2024). Este escenario resalta la necesidad de incrementar la producción y fortalecer el manejo fitosanitario y poscosecha, para reducir pérdidas y asegurar la oferta del fruto.

Uno de los principales problemas fitopatológicos del manzano es la "mancha de fuego", causada por *Erwinia amylovora* (*E. amylovora*), cuya rápida diseminación y agresividad representan un desafío para la productividad. La identificación oportuna del patógeno es fundamental para implementar medidas eficaces que limiten su propagación y las pérdidas económicas asociadas (Busdieker-Jesse, 2016; Patyka et al., 2016).

A pesar de los avances en estrategias de manejo, los antibióticos siguen siendo las soluciones más utilizadas para contener la mancha de fuego; sin embargo, su aplicación frecuente provoca la acumulación de residuos en el suelo y en el ambiente agrícola, favoreciendo la selección y propagación de bacterias resistentes. Esta situación representa un riesgo reconocido para la salud humana, ya que los genes de resistencia pueden transferirse desde el ambiente agrícola hacia microorganismos asociados a humanos (Martínez, 2009; Pedroncelli y Puopolo, 2024). Entre los mecanismos de resistencia más frecuentes destacan la inactivación enzimática y la reducción de la sensibilidad bacteriana (Patiño, 2003).

Debido a la creciente preocupación por la resistencia antimicrobiana, se ha impulsado la búsqueda de alternativas complementarias que reduzcan la dependencia de antibióticos. En este contexto, los aceites esenciales (AE) representan una opción prometedora. La Farmacopea Europea (2010) los define como mezclas aromáticas complejas, extraídas de tejidos vegetales mediante procesos como la

destilación por arrastre de vapor, que conservan sus propiedades bioactivas (El Asbahani et al., 2009; Tongnuanchan y Benjakul, 2014).

Los AE contienen entre 20 y 60 compuestos, destacando los fenoles monoterpenicos timol y carvacrol, predominantes en especies de la familia Lamiaceae. Estos compuestos han demostrado una potente actividad antimicrobiana mediante la alteración de la membrana bacteriana, la despolarización de sus componentes lipídicos y la pérdida de solutos esenciales, lo que compromete la integridad celular (Lee et al., 2005; Sim et al., 2019; Maczka et al., 2023; Khan et al., 2020; Di Pasqua et al., 2007).

El uso de AE ofrece ventajas como menor toxicidad, biodegradabilidad y bajo costo (Yap et al., 2014), pero su efectividad puede requerir concentraciones elevadas y su acción es menos específica que la de los antibióticos (Seow et al., 2013; Álvarez-Martínez et al., 2021). Sin embargo, diversos estudios han demostrado que la combinación de antibióticos con fitoquímicos puede potenciar la entrada del antibiótico en la bacteria, reducir las dosis requeridas e, incluso, revertir mecanismos de resistencia, lo que representa una estrategia prometedora para el manejo integrado de patógenos (Sanhueza et al., 2017; Gan et al., 2025).

En México, el incremento en la superficie destinada a manzano y los problemas derivados del uso indiscriminado de antibióticos han motivado la evaluación de alternativas naturales y sostenibles para el control de *E. amylovora*. La combinación de compuestos fenólicos y antibióticos supone una vía viable y de alto interés para fortalecer las estrategias de manejo fitosanitario (DuPont, 2024). Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue

evaluar, *in vitro*, la actividad antimicrobiana de aceites esenciales ricos en compuestos fenólicos frente a una cepa de *E. amylovora* resistente a estreptomicina, así como determinar el efecto inhibitorio y su potencial como alternativa natural en el manejo de la mancha de fuego del manzano.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación fue de tipo experimental, *in vitro* y comparativo, y se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisicoquímica y Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. En la Tabla 1 se presentan los aceites esenciales utilizados, su fuente de obtención y el método mediante el cual fueron extraídos.

Procedimiento de extracción de los aceites esenciales

Extracción asistida por ultrasonido

Se utilizó ultrasonido como pretratamiento en la extracción de aceites esenciales. Las muestras se sometieron a un baño ultrasónico *digital ultrasonic* (MH-031X, China) con una potencia de 180 W y una frecuencia de 40 kHz durante 15 min a 28 °C, utilizando agua destilada en una proporción de 2:1 como medio de transmisión (Nolazco, 2020).

Extracción del aceite esencial

La extracción se realizó mediante arrastre de vapor con un equipo VEVOR. El material vegetal fue expuesto al vapor, liberando los compuestos volátiles que posteriormente se condensaron en el hidrolato. La fase orgánica se obtuvo mediante extracción con hexano en un embudo de separación. Para eliminar el agua residual presente en esta fase, se empleó inicialmente

Tabla 1. Aceites esenciales utilizados, su origen botánico y órgano vegetal empleado.
Table 1. Essential oils used, botanical origin, and plant organ utilized.

Planta	Nombre científico	Abreviatura	Órgano vegetal
Eucalipto	<i>Eucaliptus globulus</i>	<i>E. globulus</i>	Hoja
Lavanda	<i>Lavanda angustifolia</i>	<i>L. angustifolia</i>	Flor
Naranja	<i>Citrus sinensis</i>	<i>C. sinensis</i>	Cáscara
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>T. vulgaris</i>	Hoja
Albahaca	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>O. basilicum</i>	Hoja
Orégano europeo*	<i>Oreganum vulgare</i>	<i>O. vulgare</i>	Aceite
Orégano cultivado**	<i>Lippia graveolens</i>	<i>L. graveolens</i> (c)	Hojas
Orégano silvestre	<i>Lippia graveolens</i>	<i>L. graveolens</i> (s)	Hojas
Hierbabuena	<i>Mentha spicata</i>	<i>M. spicata</i>	Hojas

Las muestras se obtuvieron de proveedores de plantas aromáticas y comercio local.

* Muestra cosechada en campo (Saucillo, Chihuahua).

** Muestra proporcionada por la empresa Oreganeros del Conchos S.A. de C.V.

sulfato de sodio anhidro como agente desecante. Posteriormente, el extracto orgánico se concentró en un rotavapor (Science Med SM100-PRO, Finlandia), proceso que permitió completar la eliminación de hexano y humedad remanente por evaporación bajo presión reducida. El aceite esencial purificado se almacenó en frascos ámbar y se conservó a 4 °C hasta su uso (Nahar y Sarker, 2019).

Obtención de cepa de *Erwinia amylovora*

La muestra de *E. amylovora* utilizada en este estudio fue proporcionada por el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), ubicado en Cuauhtémoc, Chihuahua. Esta cepa presenta resistencia a $\geq 1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ de estreptomicina, la cual fue previamente evaluada. La resistencia fue confirmada mediante PCR, amplificando una región de 900 pb del plásmido pEA29 y otra de 1.269 pb del cromosoma. El mecanismo de resistencia se atribuyó a una mutación en el codón 43 del gen *rpsL*, que causa una sustitución de aminoácido en la proteína ribosomal S12, confiriendo alta resistencia al antibiótico (De León Door et al., 2013).

Caracterización bioquímica de *E. amylovora*

Panel de identificación

Se evaluó el perfil de pruebas bioquímicas utilizando el panel para bacterias Gram negativas tipo68 MicroScan (Beckman Coulter, EUA). Para esta evaluación, se empleó el software Beckman Coulter LabPro versión 4.43 y el lector automatizado para paneles MicroScan autoSCAN-4 (Dade Behring, EUA).

Método de difusión en disco Kirby-Bauer, en pruebas de sensibilidad

Preparación del inóculo

Se utilizaron colonias bacterianas con crecimiento de 24 a 48 h en agar CCT, posteriormente, se seleccionaron colonias aisladas de *E. amylovora* y se suspendieron en agua destilada estéril. La densidad del inóculo se ajustó utilizando un espectrofotómetro

visible GENESYS™ 20 (Thermo Scientific, EUA) a 620 nm, estableciendo la turbidez en un valor equivalente al estándar 0,5 de McFarland, lo que corresponde aproximadamente a $1,2 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$.

Preparación de los tratamientos

Se inocularon 100 µL de la suspensión ajustada al estándar de McFarland sobre agar nutritivo y se distribuyeron uniformemente empleando la técnica de diseminación con hisopo. Sobre la superficie del agar se colocaron discos de papel filtro Whatman No. 3 de 6 mm previamente impregnados con los aceites esenciales, utilizando pinzas estériles para garantizar su correcta adherencia y manteniendo una distancia adecuada entre ellos para evitar la superposición de halos. Las cajas Petri se incubaron en posición invertida a 28 °C durante 24 a 48 h. Finalmente, los halos de inhibición se midieron en mm, utilizando un Vernier, y los valores obtenidos se compararon con los estándares establecidos para evaluar la susceptibilidad del microorganismo (Bauer et al., 1966; NCCLS, 2003). Los resultados correspondientes se presentan en la Tabla 2.

Todos los tratamientos se prepararon con un volumen final de 10 µL, utilizando DMSO (dimetilsulfóxido) como solvente en los tratamientos T1-T3. Las pruebas se realizaron por triplicado.

Preparación del antibiograma

Se realizó el antibiograma utilizando el panel Combo Tipo 33 (Beckman Coulter, EUA). En esta evaluación se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los antibióticos empleados, que incluyeron gentamicina, tetraciclina, penicilina, amoxicilina y ampicilina. El análisis se llevó a cabo mediante el software Beckman Coulter LabPro, versión 4.43.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para identificar diferencias estadísticas entre los tratamientos. Para discriminar entre medias

Tabla 2. Tratamientos evaluados con diferentes concentraciones de aceite esencial.

Table 2. Treatments evaluated at different essential oil concentrations.

Tratamiento	Concentración (% v/v)	Descripción
T1	25	Aceite esencial disuelto en DMSO
T2	50	Aceite esencial disuelto en DMSO
T3	75	Aceite esencial disuelto en DMSO
T4	100	Aceite esencial puro
Control 1	-	Agua destilada
Control 2	-	DMSO

significativamente distintas, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey HSD con un nivel de significancia del 95 % ($p < 0,05$). Los resultados se interpretaron mediante la agrupación de medias con letras, donde los tratamientos que comparten la misma letra no difieren estadísticamente entre sí. Todos los análisis se realizaron con el software SAS® versión 9.4.

RESULTADOS

Caracterización bioquímica de *E. amylovora*

La cepa evaluada fue identificada como *E. amylovora* mediante una serie de pruebas bioquímicas estándar. Los resultados obtenidos coinciden plenamente con el perfil bioquímico característico de *E. amylovora*, descrito en la literatura. En particular, la fermentación positiva de glucosa, sacarosa, sorbitol, rafinosa y arabinosa, así como la actividad oxidativa/fermentativa de glucosa (OF/G), oxidativa/básica (OF/B) y la utilización de citrato, se hallan entre los criterios diagnósticos fundamentales para esta especie (Paulin, 2000; Jones y Geider, 2001). Del mismo modo, la negatividad en pruebas como

nitrato, lisina, arginina, triptófano deaminasa, Voges-Proskauer, ONPG, producción de H_2S y descarboxilasas refuerza la especificidad del perfil frente a otras enterobacterias fitopatógenas (EPPO, 2022).

Pruebas de sensibilidad

Los aceites de *T. vulgaris*, *O. vulgare* y *L. graveolens* (c) indujeron los mayores halos de inhibición, con 34–37 mm al 100% (grupo A), indicando una actividad significativamente superior al resto ($p < 0,05$). A 75%, *T. vulgaris* (34,2 mm), *O. vulgare* (31,1 mm) y *L. graveolens* (c) (29,9 mm) también formaron el grupo A o B, mientras que a 50% sólo *T. vulgaris* (31,3 mm) y *L. graveolens* (c) (28,0 mm) quedaron en el segundo estrato (grupo B) (Fig. 1). En concentraciones bajas (25%) destacó *L. graveolens* (c) con 25,5 mm (grupo B), mientras que los aceites de albahaca (*O. basilicum*) y *Citrus sinensis* resultaron inactivos (0 mm, grupo G) o mostraron escasa actividad (< 9 mm, grupos E-F). Los aceites de *M. spicata*, *L. angustifolia* y *E. globulus* exhibieron una inhibición intermedia (11–27 mm; grupos C–D), creciente con la concentración. Estos resultados muestran que los tratamientos agrupados en A

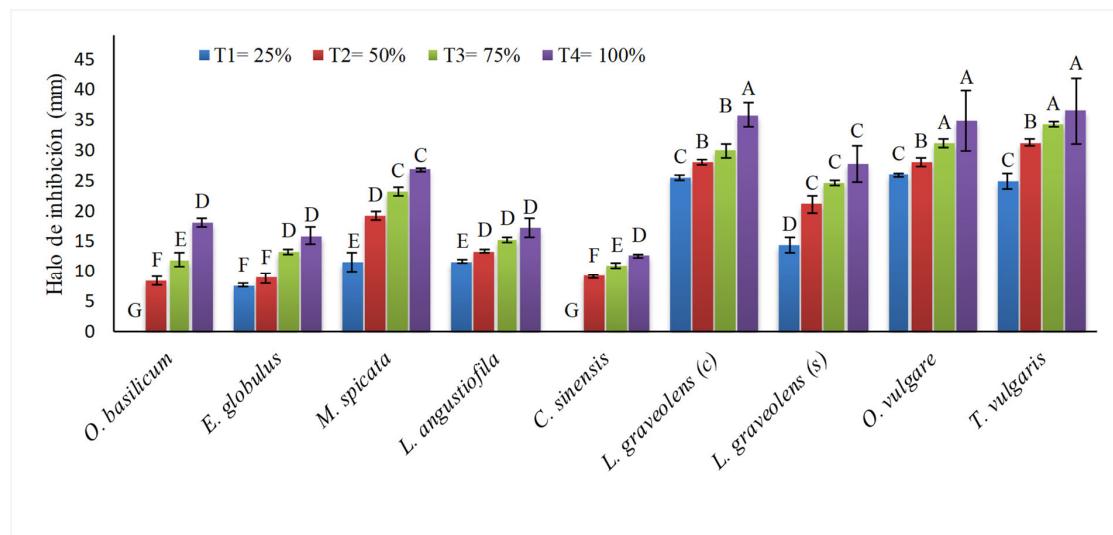


Fig. 1. Actividad antimicrobiana de aceites esenciales frente a *E. amylovora* resistente a estreptomicina, expresada como halos de inhibición obtenidos por difusión en disco a diferentes concentraciones. Los valores corresponden a la media de tres repeticiones ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Fig. 1. Antimicrobial activity of essential oils against streptomycin resistant *E. amylovora*, expressed as inhibition halos obtained by the disk diffusion method at different concentrations. Values correspond to the mean of three replicates ± standard error. Different letters indicate significant differences among means according to Tukey's test ($p < 0,05$).

fueron los más efectivos. En ellos, tres aceites destacaron al aumentar la concentración, lo que potenció su actividad antimicrobiana.

Evaluación de antibióticos frente *E. amylovora*

Se evaluó la actividad antimicrobiana de varios antibióticos que son de uso común en la agricultura y que han sido reportados contra bacterias fitopatógenas. Entre los antibióticos utilizados se incluyen gentamicina, tetraciclina, penicilina, amoxicilina y ampicilina, los cuales han sido utilizados en distintos países de América y Asia para el control de enfermedades bacterianas en plantas (McManus et al., 2002; Rodríguez et al., 2006; Sundin y Wang, 2018; Taylor y Reeder, 2020; Miller et al., 2022). Estos antibióticos fueron seleccionados con base en su historial de aplicación agrícola y su potencial mecanismo de acción diferencial, con el fin de evaluar su efectividad frente a *E. amylovora*, agente causal de la mancha de fuego.

El antibiograma se efectuó con el panel MicroScan® tipo 68 (Beckman Coulter, USA), que contiene concentraciones en doble dilución y parámetros para cada uno de los antibióticos aquí investigados: amoxicilina ($0,5\text{--}2\text{--}4 \mu\text{g mL}^{-1}$), ampicilina ($0,5\text{--}1\text{--}2 \mu\text{g mL}^{-1}$), gentamicina ($1\text{--}2\text{--}4\text{--}8 \mu\text{g mL}^{-1}$), penicilina ($0,12\text{--}0,25\text{--}0,5\text{--}1\text{--}2 \mu\text{g mL}^{-1}$) y tetraciclina ($1\text{--}2\text{--}4\text{--}8 \mu\text{g mL}^{-1}$), según datos obtenidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023). Estos datos fueron ajustados para la cepa investigada, la cual presentó CIM $\leq 4 \mu\text{g mL}^{-1}$ para amoxicilina (R), $\leq 2 \mu\text{g mL}^{-1}$ para ampicilina y $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ para penicilina, mientras que resultó sensible a gentamicina (CIM $\leq 4 \mu\text{g mL}^{-1}$) y tetraciclina (CIM $\leq 4 \mu\text{g mL}^{-1}$). Estos resultados confirman la falta de actividad de los β -lactámicos y sensibilidad a los aminoglucósidos y tetraciclinas frente a la cepa estudiada (Tabla 3).

DISCUSIÓN

La mancha de fuego es una de las enfermedades bacterianas más agresivas que afecta la cosecha de manzana en distintas partes del mundo,

estas epidemias causadas por este patógeno son esporádicas y dependen de varios factores, como las condiciones ambientales, la susceptibilidad del hospedante o según la cantidad del inoculo. Por ello, el uso de tratamientos que eviten la proliferación de este patógeno es esencial para evitar su diseminación que resulta altamente contagiosa.

Crecimiento de *E. amylovora* en agar Mueller-Hinton (MHA)

Según el CLSI (2023) y el Comité Europeo de Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST, 2024), el agar MHA constituye el medio de referencia para los ensayos de difusión en disco, tanto en el ámbito clínico como en la investigación agrícola, debido a su formulación precisa que garantiza resultados más homogéneos (Islam et al., 2014; Mendes et al., 2022).

Resistencia de la cepa bacteriana a estreptomicina

Diversos estudios han identificado la sustitución puntual de lisina por arginina en el codón 43 del gen *rpsL* (K43R) como el principal determinante de la resistencia de *E. amylovora* a la estreptomicina. Escursell et al. (2021) caracterizaron esta mutación en aislamientos de campo, mostrando que la variante K43R es la más frecuente y confiere niveles de resistencia superiores a $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$. En ese mismo sentido, Schmidt et al. (2025) analizaron cepas recolectadas en huertos de Iowa entre 2022 y 2023 y hallaron que el 90% de las cepas resistentes portaban esta misma mutación. En consecuencia, en el presente estudio se empleó una cepa con la misma variante de la mutación K43R, reconocida por su elevada resistencia a la estreptomicina, uno de los antibióticos de uso más habitual contra este fitopatógeno.

Identificación bioquímica de la cepa de *E. amylovora*

Paulín (2000) demostró que *E. amylovora* fermenta glucosa, sacarosa, sorbitol, rafinosa y arabinosa, hallazgos que coinciden con los de

Tabla 3. Antibiotograma en equipo automatizado DADE BEHRING autoSCAN-4.
Table 3. Antibiogram using DADE BEHRING autoSCAN-4 automated equipment.

Antibiótico	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Interpretación
Amoxicilina	≤ 4	R
Ampicilina	≤ 2	R
Gentamicina	≤ 4	S
Penicilina	2	R
Tetraciclina	≤ 4	S

Antibióticos usados en el antibiotograma frente a *E. amylovora* en panel tipo 68, interpretación: sensible (S), resistente (R).

este estudio. Esta capacidad fermentativa no solo facilita la adaptación de la bacteria en los tejidos hospedantes, sino que también impulsa la síntesis de levan, un exopolisacárido fundamental para la formación de biopelículas y la virulencia (Yuan et al., 2022).

Del mismo modo, Jones y Geider (2001) reportaron positividad en las pruebas oxidativa/fermentativa de glucosa (OF/G), oxidativa/básica (OF/B) y de utilización de citrato, criterios que el EPPO Standard PM 7/20 (3) establece como esenciales para diferenciar *E. amylovora* de otras enterobacterias fitopatógenas (EPPO, 2022).

Antibióticos de uso agrícola frente a *E. amylovora*

Las bacterias fitopatógenas provocan pérdidas devastadoras en huertos de manzana a nivel mundial (Mansfield et al., 2012). Sin embargo, la cantidad de antibióticos empleada en la protección vegetal es muy baja en comparación con la medicina humana y veterinaria; no obstante, su uso podría estar más extendido de lo estimado, pues la falta de un monitoreo preciso dificulta la cuantificación global de las dosis aplicadas (McManus, 2014; Sundin y Wang, 2018). En Europa y África Occidental estos productos fitosanitarios no están autorizados, mientras que en América y Asia se permiten de manera limitada; solo Estados Unidos, Nueva Zelanda e India publican datos sobre las cantidades realmente aplicadas en campo (Verhaegen et al., 2023).

En el ámbito agrícola, los antibióticos β -lactámicos (penicilina, ampicilina y amoxicilina) no están aprobados para el control de *E. amylovora*, debido a su limitada penetración en los tejidos vegetales y al alto riesgo de promover resistencias en patógenos humanos y veterinarios (Vidaver, 2002; Naas et al., 2004). Estos fármacos β -lactámicos actúan inhibiendo las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs), enzimas responsables del entrecruzamiento del peptidoglicano en la pared celular bacteriana. Al bloquear esta unión, se impide la síntesis de la pared y se provoca la autólisis de la célula (Vollmer et al., 2008). Sin embargo, en la cepa S435 de *E. amylovora* muestran resistencia al quedar protegidas por la acción de β -lactamasas AmpC, que hidrolizan el anillo β -lactámico antes de que el antibiótico alcance su blanco, lo que explica la falta de actividad de estas penicilinas frente a la bacteria (Naas et al., 2004; Sundin y Wang, 2018). Este mecanismo podría explicar los elevados valores de concentración mínima inhibitoria (CIM) obtenidos, que se interpretan como un fenotipo resistente a los productos de la clase β -lactámicos.

En el antibiograma se incluyó la tetraciclina, cuyo mecanismo de acción frente a bacterias es idéntico al de la oxitetraciclina. La tetraciclina, rara vez se emplea directamente en cultivos, debido a su menor solubilidad y estabilidad en el ambiente foliar. En cambio, la oxitetraciclina en su estructura química incorpora un grupo hidroxilo adicional que mejora su solubilidad en agua y su persistencia sobre la superficie vegetal, sin alterar su sitio de acción ni el modo de inhibición de la síntesis proteica (Chopra y Roberts, 2001; Roberts, 2005; Vidaver, 2002). Por lo tanto, los valores obtenidos en este estudio revelan que *E. amylovora* es sensible a la tetraciclina, lo que confirma la fiabilidad de este antibiótico en las pruebas de susceptibilidad realizadas.

En el antibiograma también se evaluó la gentamicina, un aminoglucósido de acción bactericida que se une de forma irreversible a la subunidad 16S del ribosoma, provocando errores de lectura del ARNm y deteniendo la síntesis proteica (Miller et al., 2022). Aunque su empleo en el ámbito agrícola es más restringido que el de la estreptomicina y la oxitetraciclina, la gentamicina está autorizada en México y algunos países de Centroamérica para el control de la mancha de fuego, donde, en el presente estudio, se muestra una CIM $\leq 4 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ contra *E. amylovora* en el panel con antibióticos (EFSA, 2024). Aunque tanto la estreptomicina como la gentamicina pertenecen a la familia de los aminoglucósidos, sus blancos ribosomales y rutas de resistencia en *E. amylovora* difieren sustancialmente, lo que explica por qué no comparten el mismo perfil de efectividad. La estreptomicina se une específicamente a la proteína S12 de la subunidad 30S, y la mutación K43R en el gen *rpsL* altera ese sitio de anclaje, elevando la CIM por encima de $1.000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (Escursell et al., 2021). Por el contrario, la gentamicina funciona mediante un sistema de transporte dependiente de la fuerza protón-motriz y se fija principalmente en el ARN 16S, un mecanismo de entrada y unión que no está comprometido por la K43R ni por enzimas modificadoras en *E. amylovora*, de modo que mantiene una CIM $\leq 4 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (Webster et al., 2022; Miller et al., 2022). Esta disparidad en los sitios de acción y en las rutas de resistencia subraya la necesidad de elegir el aminoglucósido adecuado, según las regulaciones del país donde su uso sea permitido.

Pruebas de sensibilidad de aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas y concentradas de compuestos volátiles, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanoides producidos como metabolitos secundarios por plantas aromáticas y obtenidos

mediante destilación por vapor, extracción con disolventes o CO₂ supercrítico. Gracias a su bajo peso molecular y carácter lipofílico, presentan una elevada bioactividad que se traduce en propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias y antitumorales (Machado et al., 2022; Pandey et al., 2023). Su mecanismo de acción incluye la alteración de la permeabilidad de membranas, la generación de estrés oxidativo intracelular y la modulación de rutas de señalización inflamatoria, lo que respalda su potencial aplicación en las industrias farmacéutica, nutracéutica y de alimentos funcionales (Zhao et al., 2023).

En esta investigación datos que arrojaron el aceite esencial de tomillo (*T. vulgaris*) al 100% alcanzó el mayor halo de inhibición frente a *E. amylovora* ($36,5 \pm 0,62$ mm), seguido muy de cerca por *O. vulgare* y *L. graveolens* cultivado (34,9–36,5 mm al 100%). Kosakowska et al. (2024) demostraron que el AET de *T. vulgaris* empleado en sus pruebas contenía más del 50% de timol junto con carvacrol, lo que produjo diámetros de inhibición de 32–38 mm frente a cepas clonales de *E. amylovora*. Se atribuye esta potente actividad al elevado contenido de monoterpenoides fenólicos, cuya alta lipofilicidad les permite insertarse en los lípidos de la membrana bacteriana, induciendo fuga de iones y colapso del potencial de membrana (Burt, 2004). A diferencia de los anteriores, *L. graveolens* silvestre mostró menor halo (27,8 mm), probablemente por una menor concentración de carvacrol o timol; esto podría causar que existan variaciones del 10–15% en contenido fenólico que pueden traducirse en diferencias de hasta 25% en diámetro de inhibición (Nostro y Papalia, 2012).

M. spicata (26,8 mm) y *L. angustifolia* (17,2 mm) mostraron inhibición intermedia, asociada a compuestos como mentol, linalool y acetato de linalilo. Estos monoterpenos oxigenados alteran la fluidez de la membrana, pero carecen del grupo fenólico que potencia la acción disruptiva en Gram-negativos (Chang et al., 2022).

O. basilicum y *C. sinensis* no inhibieron a la concentración del 25% y apenas alcanzaron 12–18 mm al 100%. Su perfil dominado por limoneno, eugenol y linalool, con alta volatilidad y pobre solubilidad acuosa, limita su difusión en agar y su eficacia frente a la membrana externa de *E. amylovora* (Mendes et al., 2024). De modo similar, *E. globulus* (15,9 mm) se caracteriza por 1,8-cineol, activo sobre Gram-positivos, pero menos penetrante en Gram-negativos (Chang et al., 2022). Como se observa en la literatura revisada, la efectividad de los aceites esenciales frente a *E. amylovora* recae principalmente en aquellos ricos en monoterpenoides fenólicos, como los de *T. vulgaris*, *L. graveolens* y *O. vulgare*, mientras que los

aceites con menor contenido de estos compuestos arrojan resultados menos prometedores.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio demuestran que los aceites esenciales ricos en timol y carvacrol presentan una actividad antimicrobiana sobresaliente frente a una cepa de *E. amylovora* resistente a estreptomicina.

Los aceites de *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare* y *Lippia graveolens* (cultivado) mostraron los mayores halos de inhibición en todas las concentraciones evaluadas, particularmente al 100%, lo cual se relaciona con su elevado contenido de compuestos fenólicos. En contraste, los aceites de *Ocimum basilicum*, *Citrus sinensis*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* y *Eucalyptus globulus* exhibieron actividad moderada o nula, confirmando que la eficacia antimicrobiana depende del perfil químico predominante en cada aceite esencial. El antibiograma reveló que la cepa evaluada es resistente a penicilina, ampicilina y amoxicilina, pero sensible a gentamicina y tetraciclina, lo que confirma un patrón de resistencia específico para antibióticos β-lactámicos y coincide con su resistencia previa a estreptomicina.

En conjunto, los aceites esenciales fenólicos representan alternativas promisorias para el manejo *in vitro* de cepas resistentes de *E. amylovora*, al demostrar una inhibición significativa del crecimiento bacteriano. La integración de ambas evaluaciones actividad de aceites esenciales y perfil de susceptibilidad antibiótica, constituye un aporte relevante, ya que ofrece bases experimentales para el desarrollo futuro de estrategias de manejo integrado que reduzcan la dependencia de antibióticos convencionales.

Estos resultados aportan una perspectiva innovadora para el control fitosanitario del manzano, destacando el valor de los aceites esenciales ricos en timol y carvacrol como alternativas o coadyuvantes frente a la creciente problemática de resistencia antimicrobiana en *E. amylovora*.

Contribución de los autores

Los siguientes autores tuvieron una participación activa en la revisión bibliográfica: Daniel Triana Anzures, Nora Aideé Salas Salazar, María Janeth Rodríguez Roque; en la elaboración de la metodología: Daniel Triana Anzures, Celia Chávez Mendoza, Carlos Acosta Muñiz; en la discusión de resultados: Nora Aideé Salas Salazar, Mayra Cristina Soto Caballero, María Antonia Flores Córdoba; en la revisión y aprobación de la versión final del artículo: todos los autores.

LITERATURA CITADA

- Álvarez-Martínez, F. J., E. Barrajón-Catalán, M. Herranz-López, and V. Micol. 2021. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine* 90:153626. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153626>
- Bauer, A. W., W. M. M. Kirby, J. C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology* 45(4):493–496.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International Journal of Food Microbiology* 94(3):223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Busdieker-Jesse, N. L., L. Nogueira, H. Onal, and D. S. Bullock. 2016. The economic impact of new technology adoption on the U.S. apple industry. *Journal of Agricultural and Resource Economics* 41(3):549–569. <http://www.jstor.org/stable/44131355>
- Chang, Y., P. F. Harmon, D. D. Treadwell, D. Carrillo, A. Sarkhosh, and J. K. Brecht. 2022. Biocontrol potential of essential oils in organic horticulture systems: From farm to fork. *Frontiers in Nutrition* 8:805138. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.805138>
- Chopra, I., and M. Roberts. 2001. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 65(2):232–260. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001>
- Chouhan, S., K. Sharma, and S. Guleria. 2017. Antimicrobial activity of some essential oils: Present status and future perspectives. *Medicines* 4(3):58. <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. 2023. Methods for antimicrobial disk susceptibility testing; approved standard—M02 (13th ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA.
- De León Door, A. P., A. Romo Chacón, and C. Acosta Muñiz. 2013. Detection of Streptomycin resistance in *Erwinia amylovora* strains isolated from apple orchards in Chihuahua, México. *European Journal of Plant Pathology* 137(2):223–229.
- Di Pasqua, R., G. Betts, N. Hoskins, M. Edwards, D. Ercolini, and G. Mauriello. 2007. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(12):4863–4870. <https://doi.org/10.1021/jf0636465>
- DuPont, S. T., K. Cox, K. Johnson, K. Peter, T. Smith, M. Munir, and A. Baro. 2024. Evaluation of biopesticides for the control of *Erwinia amylovora* in apple and pear. *Journal of Plant Pathology* 106:889–901. <https://doi.org/10.1007/s42161-023-01372-7>
- El Asbahani, A., K. Miladi, W. Badri, M. Sala, E. H. A. Addi, H. Casabianca, A. El Mousadik, D. Hartmann, A. Jilale, F. N. R. Renaud, and A. Elaissari. 2009. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics* 483:220–243. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.08.042>
- Escursell, M. M., A. Roschi, T. H. M. Smits et al. 2021. Characterization and direct molecular discrimination of rpsL mutations leading to high streptomycin resistance in *Erwinia amylovora*. *Journal of Plant Pathology* 103(Suppl. 1):99–108. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00600-8>
- EPPO, European and Mediterranean Plant Protection Organization. 2022. PM 7/20 (3) *Erwinia amylovora* (EPPO standard). https://gd.eppo.int/download/standard/144/pm7-020-3-en_rev.pdf
- EUCAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2024. EUCAST disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing. https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/disk_diffusion_method/
- EFSA, European Food Safety Authority. 2024. Data collection on antibiotics for control of plant pathogenic bacteria. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2024.EN-8522dd>
- European Pharmacopoeia Commission y European Directorate for the Quality of Medicines y Healthcare. 2010. European pharmacopoeia (Vol. 1). Council of Europe, Strasbourg, Francia.
- Islam, M. A., M. J. Alam, S. A. Urmee, M. H. Rahaman, M. H. Razu, and R. M. Mazumdar. 2014. Isolation, identification, *in vitro* antibiotic resistance and plant extract sensitivity of fire blight causing *Erwinia amylovora*. *Journal of Plant Pathology y Microbiology* 5(3):1. <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000233>

- Gan, C., E. Langa, G. Wang, F. Van Bambeke, D. Ballesteros, and M. R. Pino-Otín. 2025. Mechanisms of action and resistance prevention of synergistic thymol and carvacrol combinations with antibiotics in *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii*. *Natural Products and Bioprospecting* 15(1):36. <https://doi.org/10.1007/s13659-025-00518-7>
- Jones, A., and K. Geider. 2001. II Gram negative bacteria. *B. Erwinia* and *Pantoea*. p. 398. En: N. W. Schaad, J. B. Jones y W. Chun (eds.). *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*, 3rd ed. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Khan, I., A. Bahuguna, S. Shukla, F. Aziz, A. K. Chauhan, M. B. Ansari, V. K. Bajpai, Y. S. Huh, and S. C. Kang. 2020. Antimicrobial potential of the food-grade additive carvacrol against uropathogenic *E. coli* based on membrane depolarization, reactive oxygen species generation, and molecular docking analysis. *Microbial Pathogenesis* 142:104046. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104046>
- Kosakowska, O., Z. Węglarz, S. Styczyńska, A. Synowiec, M. Gniewosz, and K. Bączek. 2024. Activity of common thyme (*Thymus vulgaris L.*), Greek orégano (*Origanum vulgare L. ssp. hirtum*), and common oregano (*Origanum vulgare L. ssp. vulgare*) essential oils against selected phytopathogens. *Molecules* 29(19):4617. <https://doi.org/10.3390/molecules29194617>
- Lee, S. J., K. Umano, T. Shibamoto, and K. G. Lee. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 91(1):131–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>
- Mączka, W., M. Twardawska, M. Grabarczyk, and K. Wińska. 2023. Carvacrol A natural phenolic compound with antimicrobial properties. *Antibiotics* 12(5):824. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050824>
- Machado, T. Q., A. C. C. Da Fonseca, A. B. S. Duarte, B. K. Robbs, and D. P. de Sousa. 2022. A narrative review of the antitumor activity of monoterpenes from essential oils: An update. *BioMed Research International* 2022:6317201. <https://doi.org/10.1155/2022/6317201>
- Mansfield, J., S. Genin, S. Magori, V. Citovsky, M. Sriariyanum, P. Ronald, M. Dow, V. Verdier, S. V. Beer, M. A. Machado, I. Toth, G. Salmond, and G. D. Foster. 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13(6):614–629. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>
- Martínez, J. L. 2009. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental pollution* 157(11):2893–2902. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.05.051>
- McManus, P. S., V. O. Stockwell, G. W. Sundin, and A. L. Jones. 2002. Antibiotic use in plant agriculture. *Annual Review of Phytopathology* 40(1):443–465. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120301.093927>
- McManus, P. S. 2014. Does a drop in the bucket make a splash? Assessing the impact of antibiotic use on plants. *Current Opinion in Microbiology* 19:76–82. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.05.013>
- Mendes, R. J., C. Amaro, J. P. Luz, F. Tavares, and C. Santos. 2022. Variability within a clonal population of *Erwinia amylovora* disclosed by phenotypic analysis. *Peer J* 10: e13695. <https://doi.org/10.7717/peerj.13695>
- Mendes, R. J., L. Regalado, F. Rezzonico, F. Tavares, and C. Santos. 2024. Deciphering fire blight: From *Erwinia amylovora* ecology to genomics and sustainable control. *Horticulturae* 10 (11):1178. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10111178>
- Miller, S. A., J.P. Ferreira, and J.T. Lejeune. 2022. Antimicrobial use and resistance in plant agriculture: A One Health perspective. *Agriculture* 12(2):289. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020289>
- Naas, T., D. Aubert, S. Vimon, and P. Nordmann. 2004. Identification of a chromosome-borne class C beta-lactamase from *Erwinia rhipontici*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 54(5):932–935. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh446>
- Nahar, L., and S. D. Sarker. 2019. Chemistry for pharmacy students: general, organic and natural product chemistry. John Wiley y Sons, Chichester, Reino Unido.
- NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard (7th ed.). NCCLS, Wayne, Pennsylvania, USA.
- Nolazco - Cama, D., E. Villanueva Queija, B. Hatta Sakoda, and L. Téllez Monzón. 2020. Extracción y caracterización química del aceite esencial de eucalipto obtenido por microondas y ultrasonido. *Revista de Investigaciones Altoandinas* 22(3):274–284. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.661>
- Nostro, A., and T. Papalia. 2012. Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future prospectives. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* 7(1):28–35. <https://doi.org/10.2174/157489112799829684>

- Roberts, M. C. 2005. Update on acquired tetracycline resistance genes. FEMS Microbiology Letters 245(2):195–203. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.02.034>
- Pandey, V. K., A. Tripathi, S. Srivastava, A. H. Dar, R. Singh, A. Farooqui, and S. Pandey. 2023. Exploiting the bioactive properties of essential oils and their potential applications in food industry. Food Science and Biotechnology 32:885–902. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01287-0>
- Patiño, D. 2003. ¿Por qué las bacterias se hacen resistentes a la acción de los antibióticos? Umbral Científico 3:48–56.
- Patyka, V., L. Butsenko y L. Pasichnyk. 2016. Application of commercial test-systems to identify gram-negative facultatively anaerobic bacteria. Agricultural Science and Practice 3(1):43–48. <https://doi.org/10.15407/agrisp3.01.043>
- Paulin, J. P. 2000. *Erwinia amylovora*: general characteristics, biochemistry and serology. pp. 87–116. In: Vanneste, J. (ed.). Fire blight, the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Pedroncelli, A., and G. Puopolo. 2024. This tree is on fire: a review on the ecology of *Erwinia amylovora*, the causal agent of fire blight disease. Journal of Plant Pathology 106(3):823–837. <https://doi.org/10.1007/s42161-023-01397-y>
- Rodríguez, C., L. Lang, A. Wang, K. Altendorf, F. García, and A. Lipski. 2006. Lettuce for human consumption collected in Costa Rica contains complex communities of culturable oxytetracycline- and gentamicin-resistant bacteria. Applied and Environmental Microbiology 72:5870–5876. <https://doi.org/10.1128/AEM.00963-06>
- Sanhueza, L., R. Melo, R. Montero, K. Maisey, L. Mendoza, and M. Wilkens. 2017. Synergistic interactions between phenolic compounds identified in grape pomace extract with antibiotics of different classes against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. PLoS ONE 12(2): e0172273. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172273>
- Seow, Y. X., C. R. Yeo, H. L. Chung, and H. G. Yuk. 2013. Plant essential oils as active antimicrobial agents. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 54(5):625–644. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.599504>
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2024. Panorama agroalimentario 2024. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Ciudad de México, México.
- Schmidt, S. G., E. T. Alstott, A. A. Paulsen, S. M. Slack, and X. Yuan. 2025. Identification of streptomycin-resistant *Erwinia amylovora* in Iowa. Plant Disease 109(1):43–48. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-24-1177-SC>
- Sim, J. X. F., M. Khazandi, W. Y. Chan, D. J. Trott, and P. Deo. 2019. Antimicrobial activity of thyme oil, oregano oil, thymol and carvacrol against sensitive and resistant microbial isolates from dogs with otitis externa. Veterinary Dermatology 30(6):524–e159. <https://doi.org/10.1111/vde.12794>
- Sundin, G. W., and N. Wang. 2018. Antibiotic resistance in plant-pathogenic bacteria. Annual Review of Phytopathology 56:161–180. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-045946>
- Taylor, P., and R. Reeder. 2020. Antibiotic use on crops in low and middle-income countries based on recommendations made by agricultural advisors. CABI Agriculture and Bioscience 1(1):1. <https://doi.org/10.1186/s43170-020-00001-y>
- Tongnuanchan, P., and S. Benjakul. 2014. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. Journal of Food Science 79:1231–1249. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492>
- Vidaver, A. K. 2002. Uses of antimicrobials in plant agriculture. Clinical Infectious Diseases 34(Suppl. 3): S107–S110. <https://doi.org/10.1086/340247>
- Verhaegen, M., T. Bergot, E. Liebana, G. Stancanelli, F. Streissl, M. P. Mingeot-Leclercq, J. Mahillon, and C. Bragard. 2023. On the use of antibiotics to control plant pathogenic bacteria: a genetic and genomic perspective. Frontiers in Microbiology 14:1221478. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1221478>
- Vollmer, W., D. Blanot, and M. A. De Pedro. 2008. Peptidoglycan structure and architecture. FEMS Microbiology Reviews 32(2):149–167. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x>
- Webster, C. M., A. M. Woody, S. Fusseini, L. G. Holmes, G. K. Robison, and M. Shepherd. 2022. Proton motive force underpins respiration-mediated potentiation of aminoglycoside lethality in pathogenic *Escherichia coli*. Archives of Microbiology 204:120. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02710-y>
- Yap, P. S., B. C. Yiap, H.C. Ping, and S. H. Lim. 2014. Essential oils: a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. The Open Microbiology Journal 8:6–14. <https://doi.org/10.2174/1874285801408010006>

Yuan, X., L. I. Eldred, and G. W. Sundin. 2022. Exopolysaccharides *Amylovoran* and *Levan* contribute to sliding motility in the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. Environmental Microbiology 24(10):4738–4754. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16193>

Zhao, Q., L. Zhu, S. Wang, Y. Gao, and F. Jin. 2023. Molecular mechanism of the anti-inflammatory effects of plant essential oils: a systematic review. Journal of Ethnopharmacology 301:115829. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115829>

