



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DE *Rosmarinus officinalis* y
Melissa officinalis SOBRE *Aspergillus niger*
(Modalidad: Tesis de Grado)

ROSA VIRGINIA CAMINO MUCURA

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2020

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DE *Rosmarinus officinalis* y
Melissa officinalis SOBRE *Aspergillus niger*

APROBADO POR



Profa. Luz Salazar
Asesora



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO	V
LISTA DE TABLAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
RESUMEN	VIII
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	6
Material Vegetal	6
Extracción etanólica.....	6
Cepa fúngica	7
Suspensión de conidios.....	7
Evaluación de la actividad antifúngica por el método de difusión en agar	7
Determinación de la concentración mínima inhibitoria.....	8
Evaluación de la actividad antifúngica de los componentes volátiles de los extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Melissa officinalis</i> sobre <i>Aspergillus niger</i>	8
Análisis de resultados	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
CONCLUSIONES	18
RECOMENDACIONES	19
BIBLIOGRAFÍA	20
HOJAS DE METADATOS	24

DEDICATORIA

A

Dios, por permitirme llegar hasta este punto y haber puesto en mi camino a muchas buenas personas, y brindarme la fortaleza para seguir adelante.

Mis padres, pero muy en especial a mi amada madre María Elena, por quererme incondicionalmente y siempre estar a mi lado apoyándome y sobre todo, por nunca haber escatimado esfuerzo alguno en educarme, con el único objetivo de convertirme en una persona de provecho.

Mi querido hermano José Alejandro y a mis tías, por apoyarme, aconsejarme y desearme siempre lo mejor.

Mis hermanas de la infancia: Francis Torres, María Orence, Dacia Gómez y María José Jiménez, por acompañarme en todas las circunstancias posibles y valorar siempre nuestra amistad.

Mis amigas y compañeras de estudio: Emily Fariñas, Luzdeilys Fuentes, Lourdes Marcano, Zoilimar Urbina y Patricia Presilla. Iniciamos este recorrido juntas y siempre nos hemos mantenido unidas, apoyándonos unas a otras; para mí fue un verdadero placer conocerlas y contar con su amistad.

AGRADECIMIENTO

A

La profesora Luz Salazar, por aceptar ser mi asesora en la realización de este trabajo de investigación, y por brindarme sus conocimientos, tiempo y dedicación durante todo este proceso.

Todo el personal del Laboratorio de Micología del SAHUAPA, especialmente a la Sra. Mari, a la Licda. Jenny Mujica y la profesora Josefa Díaz, por brindarnos un espacio en sus instalaciones para llevar a cabo los objetivos planteado, y sobre todo por siempre estar en la mejor disposición de ayudar.

Los profesores del departamento de Bioanálisis por brindarnos sus conocimientos y formarnos como profesionales, a pesar de todas las circunstancias impuestas en el camino.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Actividad antifúngica de los extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Melissa officinalis</i> sobre <i>Aspergillus niger</i>	10
Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria del extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> sobre <i>Aspergillus niger</i>	12
Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto de <i>Melissa officinalis</i> sobre <i>Aspergillus niger</i>	12
Tabla 4. Actividad antifúngica de los componentes volátiles de los extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Melissa officinalis</i> sobre <i>Aspergillus niger</i>	13

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Plantas utilizadas para la obtención de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*. A: Hojas y tallos frescos de *Rosmarinus officinalis*. B: Hojas y tallos frescos de *Melissa officinalis*. 6
- Figura 2.** Actividad antifúngica del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus niger*. B: PDA inoculado con *Aspergillus niger* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*. 10
- Figura 3.** Actividad antifúngica del extracto de *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus niger*. B: PDA inoculado con *Aspergillus niger* + disco impregnado con el extracto de *Melissa officinalis*. 11
- Figura 4.** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus niger*. B: PDA inoculado con *Aspergillus niger* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*. 14
- Figura 5.** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus niger*. B: PDA inoculado con *Aspergillus niger* + disco impregnado con el extracto de *Melissa officinalis*. 14

RESUMEN

Aspergillus niger es un hongo filamentoso, ampliamente distribuido en la naturaleza y principal contaminante del suelo y los alimentos. Debido al uso desmesurado de fungicidas químicos, así como la utilización de preservantes en los alimentos, ha generado el desarrollo de resistencia. Es por ello, que la búsqueda de nuevas sustancias antifúngicas de origen vegetal, ha surgido como una alternativa para el control de los hongos, debido a su fácil obtención, versatilidad y naturaleza compleja. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*. Para ello, se preparó la suspensión de conidios del microorganismo en estudio y la actividad antifúngica de dichos extractos, se determinó por el método de difusión en agar, concentración mínima inhibitoria (CMI) y por volatilización de los componentes. Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica de los extractos, se establecieron al observar cualquier halo de inhibición en el crecimiento fúngico. Por el método de difusión en agar, el promedio de los halos de inhibición para *R. officinalis* fue de 9,00 mm de diámetro, mientras que para *M. officinalis* dichos halos arrojaron un promedio de 10,00 mm de diámetro. La concentración mínima inhibitoria (CMI) para el extracto de *R. officinalis* fue de 53,75 mg/ml y 40,75 mg/ml para *M. officinalis*. En cuanto a la actividad antifúngica por volatilización de los componentes, se obtuvieron halos de inhibición promedios, de 8,00 mm de diámetro para *M. officinalis*, mientras que *R. officinalis* no presentó inhibición del crecimiento fúngico. En conclusión, los extractos de las plantas utilizadas en esta investigación presentan actividad antifúngica sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*.

INTRODUCCIÓN

Los hongos son microorganismos ampliamente distribuidos en la naturaleza, que participan en la descomposición de la materia orgánica y utilizan una gran variedad de sustratos como fuente de carbono, nitrógeno y energía. Su morfología puede ser filamentosa o unicelular, además, requieren de condiciones específicas de temperatura y pH para su crecimiento (Cortés-Sánchez y Mosqueda-Olivares, 2013).

El género *Aspergillus* pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, son hongos filamentosos, saprófitos, ubicuos, formados por hifas hialinas, con reproducción sexual (a través de ascosporas contenidas en el interior de las ascas) y reproducción asexual (con formación de conidios). Las colonias son de crecimiento rápido, presentándose en diferentes tonalidades que van desde blanquecinas hasta negruzcas; están conformados por una célula conidiógena, de la cual se origina la cabeza conidial que contiene la vesícula, fiálides, métulas y conidios agrupados en columnas, los cuales son unicelulares y pueden ser lisos o rugosos, hialinos o pigmentados (Samson *et al.*, 2014; Lezcano *et al.*, 2015).

Las colonias de *Aspergillus niger* son de color blanco-amarillentas con abundantes granulaciones negras, presentan micelio septado, hialino, con cabezas aspergilaes subesféricas de 25 a 100 μm , los conidios son redondos, equinulados y negros (Arenas, 2011). Se asocia a climas cálidos y tropicales, detectándose sobre todo en alimentos almacenados, cuyas condiciones óptimas para la producción de micotoxinas son: temperatura que oscile entre los 20-25°C, pH entre 4 y 8 y una humedad relativa de 80,00 a 90,00% (Ravelo *et al.*, 2011; Serrano-Coll y Cardona-Castro, 2015).

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos, producidas, principalmente, por hongos filamentosos cuando crecen en condiciones favorables, y son excretados por ellos en diversos sustratos, los cuales incluyen granos, cereales, nueces, especias, frutas, verduras, semillas oleaginosas, entre otros, que son utilizados para el consumo humano

y/o animal (Bloom *et al.*, 2007; Kralj y Prosen, 2009). El poder toxigénico de las micotoxinas dependerá de las condiciones físicas y químicas, del tiempo de exposición de las especies contaminadas y, del estado fisiológico y nutricional del consumidor. Se conocen más de 3 000 micotoxinas; de las cuales, las principalmente asociadas a intoxicaciones alimentarias son: las aflatoxinas, ocratoxinas, zearalenonas, fumonisinas y tricotecenos (Sanchis *et al.*, 2000; Bennett y Klich, 2003; Requena *et al.*, 2005).

Las ocratoxinas han despertado interés, debido a su toxicidad aguda y su continua presencia como contaminantes en productos de consumo humano y/o animal. Son producidas por especies de hongos filamentosos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*, capaces de crecer sobre una amplia gama de sustratos orgánicos (Serrano-Coll y Cardona-Castro, 2015). Se han descrito cinco tipos de ocratoxinas: A, B, C, α y β , siendo la ocratoxina A (OTA) la de mayor poder toxigénico, y de gran importancia clínica; producida, especialmente, por las especies *Aspergillus ochraceus* y *Aspergillus niger* (Ravelo *et al.*, 2011).

La ocratoxina A (OTA) es una molécula muy estable, incolora, soluble en disolventes orgánicos polares y ligeramente soluble en agua. Esta micotoxina es absorbida en el tracto digestivo, especialmente en el intestino delgado y de ahí es transportada a través de la sangre, principalmente, a los riñones y en una menor concentración se deposita en el hígado, en músculos y en grasa (Ravelo *et al.*, 2011; Ostry *et al.*, 2013). La OTA es nefrotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinogénica, teratogénica y neurotóxica. Respecto a la actividad carcinogénica, la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC) ha clasificado a esta micotoxina en la categoría 2B, es decir, como posible carcinógeno humano (Serrano-Coll y Cardona-Castro, 2015).

En países en vías de desarrollo se producen grandes pérdidas post cosecha; ésto se debe, en gran medida, a la acción de organismos fúngicos, debido a la carencia de instalaciones de almacenaje de atmósfera refrigeradas controladas. Los alimentos almacenados sufren cambios en sus características físicas y nutricionales, lo que

conlleva a la producción de micotoxinas. Debido a la resistencia a los diferentes fungicidas comerciales, utilizados en el control de enfermedades de cultivos agrícolas y por la presencia de residuos químicos en la cadena de alimentos, la actividad antifúngica de las plantas ha sido estudiada como una alternativa para el control de estos organismos (Magro *et al.*, 2006; Márquez *et al.*, 2007).

Los extractos de plantas pueden ser empleados para la inhibición de la actividad micótica en los alimentos; sin embargo, se requiere de un adecuado control y utilización de los mismos, ya que éstos pueden alterar la composición y características de los alimentos. Por esta razón, la acción y efectividad de estos extractos vegetales amerita ser estudiada ampliamente antes de ser utilizados a nivel comercial (Omidbeygi *et al.*, 2007).

Los aceites esenciales se extraen de diversas plantas aromáticas, por lo general, localizadas en climas templados y cálidos a partir de material vegetal como flores, hojas, tallos, ramas, semillas, frutos, raíces y corteza. Además, juegan un rol importante en la protección de las plantas como sustancias antibacterianas, antivirales, antifúngicas e insecticidas (Rosas-Gallo y López-Malo, 2011). Estos extractos son mezclas de compuestos volátiles caracterizados por un olor fuerte, producidos como metabolitos secundarios y constituidos, generalmente, por terpenos, hidrocarburos lineales, derivados del benceno, ésteres, alcoholes, ácidos grasos, fenoles, ceras, acetales, cetonas, aldehídos, glicósidos (terpenos unidos químicamente a azúcares), alcaloides, cumarinas, esteroides y compuestos heterocíclicos (Davicino *et al.*, 2007).

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales depende, principalmente, de tres características: el carácter hidrófilo o hidrófobo, sus componentes químicos y el tipo de microorganismo al que debe atacar. Gracias a sus características hidrófilas, tienen la capacidad de alterar y penetrar en la estructura lipídica de la pared celular, perturbando estructuras celulares, lo cual conlleva a la desnaturalización de las proteínas y a la destrucción de la membrana celular, haciéndolas más permeables, lo que conduce a

rupturas o fugas citoplasmáticas, lisis celular y, eventualmente, muerte del microorganismo. Respecto a sus componentes, también pueden actuar como agentes que interfieren en la translocación de protones y la fosforilación del ATP, en tanto que los componentes fenólicos son los principales responsables de las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales (Reyes *et al.*, 2012; Martínez, 2018).

Melissa officinalis, conocida comúnmente como toronjil, citronela, limonera, es natural del sur y centro de Europa. Crece en estado silvestre en regiones tropicales, en malezas o bosques ricos en materia orgánica. Es utilizado como planta medicinal casera y para la industria farmacéutica y cosmética. Pertenece a la familia Lamiaceae; puede crecer hasta 80,00 cm de altura; de tallos erectos, cuadrados y leñosos. Hojas con dientes muy marcados, con característico olor a limón, pecioladas, ovales. Flores blancas o rosadas de hasta 1,20 cm reunidas en verticilos de hasta diez flores. Se le atribuyen propiedades medicinales antiespasmódicas, digestivas, bacteriostáticas, antivirales y antifúngicas (Sánchez *et al.*, 2010).

Rosmarinus officinalis, conocido como romero, pertenece a la familia Lamiaceae. Es frecuente en muchas partes del mundo; generalmente, se encuentra de forma silvestre en zonas rocosas y arenosas, es una planta arbustiva con tallos prismáticos, hojas estrechas, agudas y pequeñas, tienen forma de espigas de color verde brillante y tallos leñosos y ramificados. El tamaño varía de 0,50 a 1,00 m de altura, las flores se caracterizan por un color azul claro con pequeñas manchas violetas (Sardans *et al.*, 2005). Las hojas de esta planta se utilizan como aderezo y también, se han usado en la medicina popular, por sus efectos de antiespasmódico, analgésico, antirreumático, diurético y expectorante (Derwich *et al.*, 2011).

Melissa officinalis, al igual que *Rosmarinus officinalis*, presentan metabolitos secundarios con importantes usos medicinales. Su principal componente activo es un aceite esencial compuesto por distintos aldehídos y alcoholes como citral, citronella, geraniol y linalol, a los cuales se les atribuyen sus propiedades tranquilizantes,

digestivas, antiespasmódicas y antifúngicas. Se demostró la acción antifúngica del extracto etanólico de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus flavus*, determinada mediante técnicas de difusión en agar, encontrándose que los halos de inhibición para *Melissa officinalis* tuvieron un promedio de 4,60 mm, mientras que para *Rosmarinus officinalis* el promedio de dichos halos de inhibición fue de 3,60 mm (Martínez, 2018).

Por otra parte, Centeno y Carrera (2013) demostraron que el extracto de *Melissa officinalis* tuvo acción antifúngica sobre *Aspergillus flavus*, determinada mediante técnicas de difusión en agar y diluciones seriadas, para hallar la concentración mínima inhibitoria; encontrándose que los halos de inhibición tuvieron un promedio de 22,00 mm, mientras que la concentración mínima inhibitoria se observó en la dilución 1:2,5, que correspondió a una concentración de 23,30 mg/ml.

En las últimas décadas, se han producido muchos avances en la conservación de alimentos a través de agentes químicos, como son los benzoatos, sulfatos, propionatos, sorbatos, nitritos y nitratos, sin medir las consecuencias que éstos puedan causar a la salud; estos preservantes son añadidos a los alimentos con el objetivo de retardar el crecimiento microbiano, inactivar a los microorganismos y detener el deterioro de la calidad del producto, manteniendo la seguridad del alimento (Proaño *et al.*, 2017). Sin embargo, estos compuestos han provocado el desarrollo de resistencia fúngica. Es por ello que, se pretende evaluar la actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*, como una opción para lograr el biocontrol de estos microorganismos y reducir así la producción de sus metabolitos secundarios

METODOLOGÍA

Material Vegetal

Las plantas para la obtención de los extractos, *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, se adquirieron frescas en el mercado municipal de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, las cuales fueron llevadas al herbario Isidro Ramón Bermúdez Romero (IRBR) del Departamento de Biología de la Universidad de Oriente para ser identificadas. Se emplearon, únicamente, hojas y tallos, que fueron secados en una estufa (Felisa, México) a 45°C, durante un período de cinco días o hasta que estuvieron completamente secos, lo que se comprobó determinando el peso seco de las mismas.



Figura 1. Plantas utilizadas para la obtención de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*. A: Hojas y tallos frescos de *Rosmarinus officinalis*. B: Hojas y tallos frescos de *Melissa officinalis*.

Extracción etanólica

El extracto se obtuvo siguiendo la metodología de Bluma *et al.* (2008). Se trituraron en un mortero de cerámica las hojas y tallos de las plantas, para así obtener un fino polvo del cual se mezclaron 3 g con 20 ml del etanol al 80,00% (marca Riedel de Haen); esta mezcla se dejó en reposo durante 48 horas a temperatura ambiente y en oscuridad. Seguidamente, el extracto obtenido se filtró con papel de filtro Whatman N°1 (Whatman, EEUU) y fue vertido en placas de Petri, previamente pesadas; posteriormente, las placas que contenían los extractos fueron guardadas en oscuridad hasta que se evaporó completamente el etanol. Se determinó el peso seco de los extractos, para lo cual se restó el peso de la placa de Petri con el extracto, menos el peso

de la placa de Petri sin el mismo. Por último, para la determinación de la concentración del extracto obtenido, se tomó en cuenta el peso del extracto seco, resuspendido en 1 ml de agua destilada estéril y, se expresó la concentración en mg/ml. El extracto fue colocado en viales y guardado en refrigeración. El contenido de cada vial fue mezclado profusamente al momento de ser usado. La concentración del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* fue de 215 mg/ml y de *Melissa officinalis* 163 mg/ml.

Cepa fúngica

Se empleó una cepa de *Aspergillus niger* (código: DB-85 F), aislada de muestras de alimentos concentrados para pollos, perteneciente a la colección de hongos del Laboratorio de Micología del Departamento de Bioanálisis, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

Suspensión de conidios

La suspensión de conidios se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Rasooli *et al.* (2008); para ello, *Aspergillus niger* fue cultivado en tubos de ensayo con agar papa dextrosa, PDA (Himedia Laboratories Limited, India) a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 10 días. Posteriormente, se preparó la suspensión de conidios, para lo cual a cada tubo de ensayo se le agregaron 10 ml de solución salina estéril (SSF) y se agitó vigorosamente con la finalidad de facilitar el desprendimiento de los conidios. La suspensión que se obtuvo en cada tubo, se filtró por separado a través de una doble gasa estéril, para así eliminar otras estructuras fúngicas y obtener solo conidios en la suspensión. Finalmente, utilizando una cámara de Neubauer se ajustó la concentración de conidios a 10^6 conidios/ml.

Evaluación de la actividad antifúngica por el método de difusión en agar

La actividad antifúngica del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, se determinó de acuerdo a la metodología descrita por De Souza *et al.* (2005). Se utilizaron placas de Petri que contenían PDA, en las cuales fueron diseminados uniformemente 100 μl de la suspensión de conidios de la cepa, utilizando un asa de Digrafski. Seguidamente, se impregnaron discos de papel filtro estériles de seis

milímetros (mm) de diámetro, con cada extracto y se colocaron en el medio de las placas de Petri con PDA, previamente inoculadas con la suspensión de conidios. Se contó con un control de crecimiento con placas inoculadas con 100 µl de la suspensión de conidios sin los extractos. Las placas fueron incubadas por tres días a una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y se evaluaron cada 24 horas. Posteriormente, fueron medidos con una regla los diámetros de los halos de inhibición. La actividad antifúngica se estableció al observar cualquier halo de inhibición en el crecimiento fúngico, y se determinó comparándolo con la placa de control de crecimiento. El procedimiento se realizó por triplicado.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó siguiendo la metodología descrita por Rasooli y Mirmostafa (2003) y Rasooli *et al.* (2008). Para ello, a partir de la concentración obtenida de los extractos etanólicos, se tomaron 100 µl de los mismos y se realizaron por separado, diluciones seriadas (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32) en los micropozos de una placa que contenía 100 µl de caldo Sabouraud dextrosa (CSD) y 50 µl de la suspensión de conidios de *Aspergillus niger*. Se realizaron pozos controles que contenían solo la mezcla de caldo y suspensión de conidios y solo el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, por separado. Las placas se incubaron a 28°C durante 48 horas. Las lecturas se realizaron visualmente y se consideró la CMI como la mayor dilución que no mostró crecimiento fúngico.

Evaluación de la actividad antifúngica de los componentes volátiles de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*

La actividad antifúngica por volatilización de los componentes de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Ross *et al.* (2001). En placas de Petri que contenían PDA, se diseminaron de manera uniforme y por separado 100 µl de la suspensión de conidios de *Aspergillus niger*. Seguidamente, se impregnaron discos de papel de filtro estériles Whatman N° 1 (Whatman, EEUU) con 10 µl del extracto y se colocaron en la cara posterior de las tapas de las placas de Petri, las mismas fueron selladas con cinta *parafilm*. Se contó con un

control de crecimiento de placas inoculadas con 100 μ l de la suspensión de conidios. Las placas fueron incubadas durante un lapso de 3 a 5 días, a una temperatura de 28°C y se observaron cada 24 horas. La actividad antifúngica se estableció al observar cualquier grado de inhibición del crecimiento fúngico y se determinó comparándolo con las placas de control de crecimiento. El procedimiento se realizó por triplicado.

Análisis de resultados

Los resultados obtenidos se analizaron mediante estadística descriptiva (Triola, 2009), y se representaron a través de tablas y figuras, para comparar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar la actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* por el método de difusión en agar, se puede notar que ambos extractos presentan actividad antifúngica sobre la especie evaluada. Evidenciándose que el extracto de *Melissa officinalis* mostró mayor inhibición sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*, con halos de inhibición promedio de 10,00 mm de diámetro, mientras que los halos promedio de inhibición para *Rosmarinus officinalis* fueron de 9,00 mm (Tabla 1).

Tabla 1. Actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*.

Extracto	Microorganismo	Halos de inhibición
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	9, 00 mm
<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	10, 00 mm

mm: milímetro

En las figuras 2 y 3, se ilustran los halos de inhibición producidos por los extractos etanólico de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, donde se puede observar que los extractos utilizados presentaron actividad antifúngica sobre *Aspergillus niger*, durante las 72 horas de incubación.

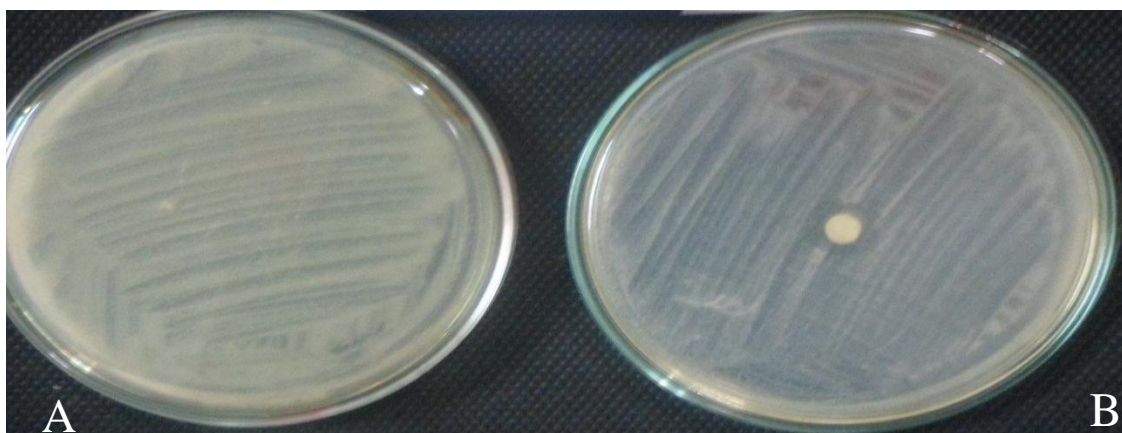


Figura 2. Actividad antifúngica del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus niger*. B: PDA inoculado con *Aspergillus niger* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

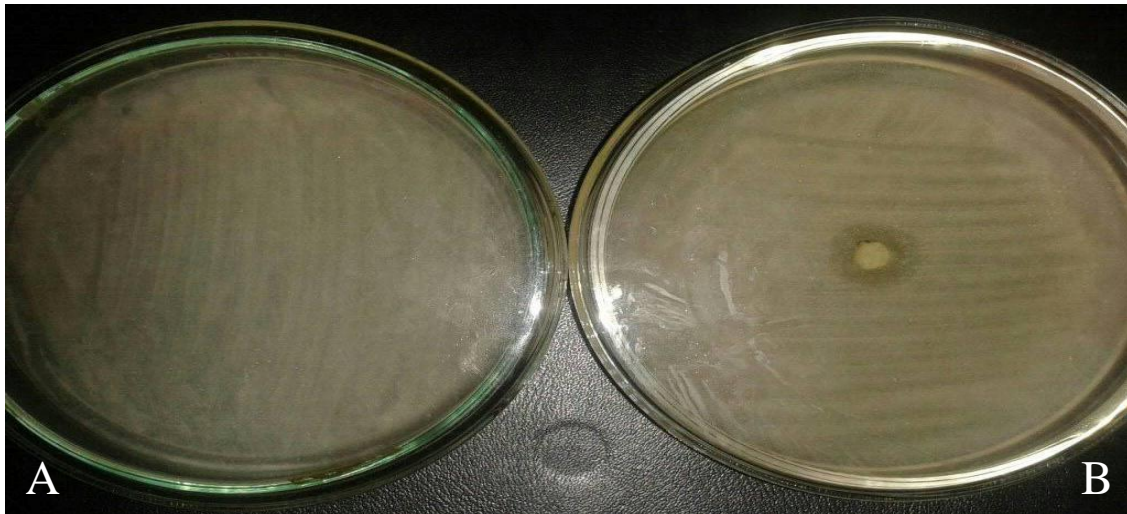


Figura 3. Actividad antifúngica del extracto de *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus niger*. B: PDA inoculado con *Aspergillus niger* + disco impregnado con el extracto de *Melissa officinalis*.

Centeno *et al.* (2010), al estudiar la actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* sobre cepas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus ochraceus*, obtuvieron para el extracto de *Rosmarinus officinalis* halos de inhibición de 14,60 mm y 16,20 mm de diámetro, respectivamente. Así mismo, los halos de inhibición obtenidos con el extracto de *Thymus vulgaris* fueron de 11,40 mm para *Aspergillus flavus* y 16,60 mm para *Aspergillus ochraceus*.

Márquez (2012), demostró que el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* presenta actividad antifúngica sobre *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* y *Candida famata*, observándose la mayor actividad del extracto sobre *C. parapsilosis*, con halos de inhibición de 21,30 mm, así mismo, los halos de inhibición promedio para *C. albicans* fueron de 12,00 mm y para *C. famata* de 18,30 mm de diámetro. Al mismo tiempo comprobó que el extracto de *Melissa officinalis*, también mostró actividad antifúngica sobre *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. famata*, al presentar halos de inhibición de 19,00 mm, 20,60 mm y 24,30 mm, respectivamente. Por otro lado, Martínez (2013), comprobó que los extractos de romero, menta y salvia, presentaron efectos inhibitorios sobre las cepas de *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*.

Gianfrancesco (2018), utilizando el extracto de *Morinda citrifolia*, logró demostrar mediante la técnica de difusión en agar, la inhibición del crecimiento de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*, obteniendo halos de inhibición de 12,70 mm sobre *Aspergillus flavus* y 8,10 mm para *Aspergillus niger*.

Los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*, se muestran en las tablas 2 y 3.

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*.

Extracto	Microorganismo	Concentración mínima inhibitoria				
		Diluciones / Concentración (mg/ml)				
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
		107,50	53,75	26,87	13,44	6,72
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	+	+	+

(-) No hubo crecimiento, (+) Hubo crecimiento

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto de *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*.

Extracto	Microorganismo	Concentración mínima inhibitoria				
		Diluciones / Concentración (mg/ml)				
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
		81,50	40,75	20,38	10,19	5,09
<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	+	+	+

(-) No hubo crecimiento, (+) Hubo crecimiento

Al evaluar la CMI del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*, éste mostró una inhibición del crecimiento fúngico a una concentración de 53,75 mg/ml, mientras que el extracto de *Melissa officinalis*, inhibió el crecimiento de la especie fúngica evaluada a una concentración de 40,75 mg/ml. Es evidente la acción antifúngica de ambos extractos; sin embargo, la mayor actividad se obtuvo con el extracto de *Melissa officinalis*, debido a que requirió de una menor concentración en comparación con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

Ayaz *et al.* (2016), al probar la acción del extracto de *Polygonum hydropiper* sobre *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*, obtuvieron inhibición del crecimiento a concentraciones de 23,33 y 125,00 µg/ml, respectivamente. Salazar (2016), logró la inhibición del crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Fusarium moniliforme* con el extracto de *Melissa officinalis* a una CMI de 81,21 mg/ml. Así mismo, Martínez (2018), reportó que los extractos etanólicos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis*, inhibieron el crecimiento de *Aspergillus flavus* a una CMI de 42,50 mg/ml y 158,00 mg/ml, respectivamente. Pérez-Delgado y Vallejos- Campos (2019), al probar la acción antifúngica del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* a concentraciones de 40,00; 20,00; 10,00; 5,00; 2,50 y 1,25 mg/ml, sobre dos cepas de *Candida albicans*, demostraron que la CMI fue de 5,00 y 10,00 mg/ml.

En la tabla 4 se muestra el efecto inhibitorio de los componentes volátiles de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, se puede apreciar que solo el extracto de *Melissa officinalis* presentó acción antifúngica sobre *Aspergillus niger*, produciendo halos de inhibición promedio de 8,00 mm de diámetro.

Tabla 4. Actividad antifúngica de los componentes volátiles de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*.

Extracto	Microorganismo	Halos de inhibición
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	No hubo inhibición
<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	8, 00 mm

mm: milímetro

En las figuras 4 y 5, se observan los halos de inhibición producidos por los componentes volátiles de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, notándose así, que solo los componentes del extracto de *Melissa officinalis* actuaron como sustancias antifúngicas sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*, durante las 72 horas de incubación.

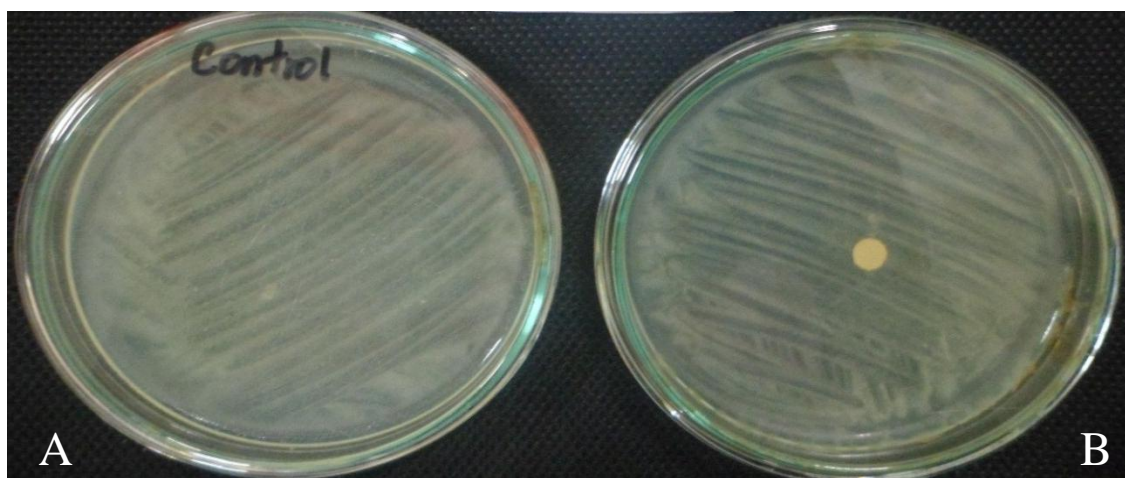


Figura 4. Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus niger*. B: PDA inoculado con *Aspergillus niger* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

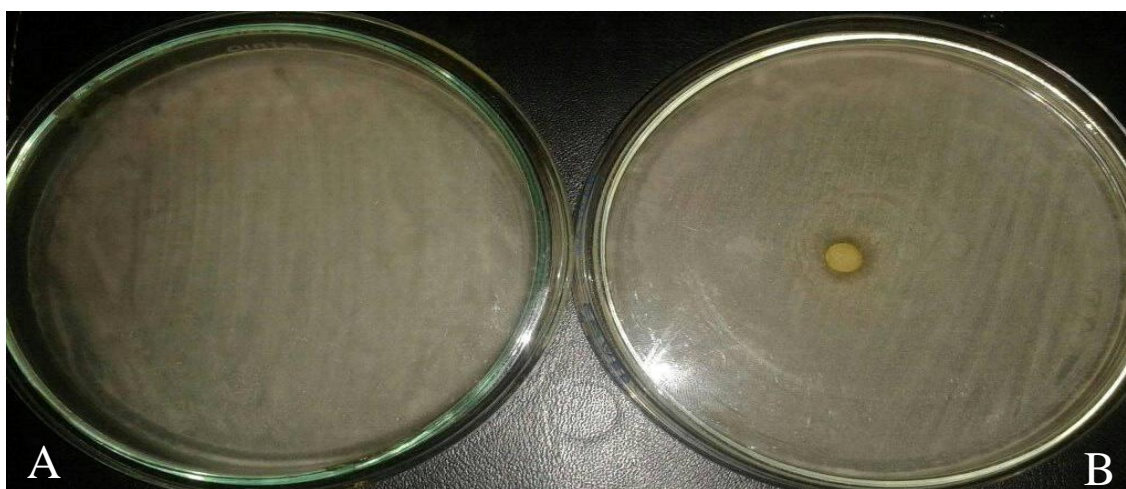


Figura 5. Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus niger*. B: PDA inoculado con *Aspergillus niger* + disco impregnado con el extracto de *Melissa officinalis*.

Phillip *et al.* (2011), determinaron que los vapores del aceite esencial de *Citrus* inhibieron completamente la esporulación de *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* y *Alternaria alternata*. Lorenzetti *et al.* (2011), evaluaron el efecto de los componentes volátiles de doce aceites esenciales, en donde el aceite de limón presentó una inhibición del 100% del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*. Por su parte, los

aceites de canela, malaleuca, menta, eucalipto, clavo y palmarosa mostraron una efectividad del 80,00 al 59,00% sobre el control. De igual forma, Salazar (2016), observó que los vapores emitidos por el extracto de *Melissa officinalis*, tuvo un efecto inhibitorio en el crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Fusarium moniliforme*, produciendo halos de inhibición de 19,50 mm, 15,50 mm y 24,50 mm, respectivamente. Así mismo, Gianfrancesco (2018), al probar la acción antifúngica de los compuestos volátiles del extracto de *Morinda citrifolia* sobre *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*, obtuvo halos de inhibición de 6,70 mm sobre *A. flavus* y 6,10 mm de diámetro para *A. niger*.

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se atribuye a la presencia de compuestos aromáticos, constituidos generalmente por terpenos, ésteres, alcoholes, ácidos grasos, fenoles, ceras, cetonas, aldehídos, alcaloides, cumarinas, y esteroides (Montes-Belmont., 2009). Estudios fitoquímicos realizados a *Rosmarinus officinalis* han permitido conocer que sus principales componentes son α - pineno, β - pineno, timol y ésteres terpénicos como 1,8-cineol, alcanfor y linalol (Ozcan y Chalchat., 2008).

Por su parte, Ávila *et al.* (2011), lograron identificar 7 compuestos del aceite esencial de romero, destacando como compuestos mayoritarios el 1,8-cineol (31,19%), α - pineno (33,10%), β - pineno (9,13%), alcanfor (18,00%), canfeno (3,40%), p- cimeno (4,37%) y linalol (0,81%).

De igual forma Bakkali *et al.* (2008), señalaron que los componentes principales del aceite esencial de *Melissa officinalis* son: citronelal (39,00%), citral (33,00%), carvacrol (13,31%) e iso-mentona (8,85%); todos estos compuestos son terpenos, específicamente monoterpenos, a los cuales se le atribuye el 90,00% de los constituyentes de los aceites esenciales. Otros estudios demuestran la presencia de compuestos polifenólicos (ácido rosmarínico, ácido cafeico), gerantial, α - pineno, β - pineno y taninos (Acevedo *et al.*, 2013).

Son muchos los factores que influyen en la composición de los aceites esenciales, denominado quimiotipo, entre ellos, los más importantes son: el origen, la especie y el

órgano de la planta, las condiciones climáticas y de crecimiento (temperatura, fertilizantes, tierra de cultivo, etc.) (Avello *et al.*, 2012). El efecto antimicrobiano de los aceites esenciales se ve favorecido por las bajas temperaturas, bajo pH y bajos niveles de oxígeno; todo esto pudiera interferir en la captación de los nutrientes necesarios para el desarrollo de los hongos e inclusive inhibirlos (Velásquez *et al.*, 2014).

El efecto antifúngico presentado por los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* mediante el método de difusión en agar, probablemente se deba a la sinergia entre sus componentes, constituidos mayormente por compuestos terpénicos. Sin embargo, al evaluar la acción de los componentes volátiles de ambos extractos, el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* no mostró ningún efecto inhibitorio sobre el hongo ensayado. Avello *et al.* (2012) resaltan que esto en ocasiones puede deberse a la presencia de compuestos menos volátiles, los cuales poseen una masa molar mayor en comparación con los monoterpenos, razón por la cual no resultan ser lo suficientemente efectivos; por otro lado, la falta de actividad antifúngica se le puede atribuir a la pérdida o disminución de la concentración de compuestos volátiles durante el proceso de extracción del aceite, razón por la cual no controlan de manera efectiva el crecimiento fúngico por contacto indirecto.

Los componentes terpénicos, en especial los monoterpenos son metabolitos secundarios de las plantas que juegan un rol importante en su función metabólica. Estos son compuestos altamente volátiles y son los responsables de atraer insectos beneficiosos que ayudan al proceso de polinización; así mismo, se les asocia con diversas actividades biológicas como antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, entre otras (Bakkali *et al.*, 2008; Vaillant *et al.*, 2009). Su espectro de bioactividad dependerá de la concentración y la forma como actúen en mezcla con otros compuestos o individualmente, afectando las diferentes etapas de crecimiento fúngico, como la germinación de esporas, formación de estructuras de penetración, desarrollo del micelio y esporulación (Velásquez *et al.*, 2014).

El mecanismo de acción de los extractos de plantas o aceites esenciales y sus respectivos componentes no está claro; sin embargo, Avello *et al.* (2012) señalan que el posible mecanismo de acción de los terpenos contenidos en los aceites esenciales pueda deberse a su volatilidad y baja masa molar, de esta forma pueden atravesar fácilmente estructuras de resistencia de la especie fúngica. Así, tanto el daño a la membrana citoplasmática como la reducción de su contenido de ergosterol (esterol que compone la membrana celular de los hongos), promueven la formación de poros por los cuales se difunden moléculas e iones (fundamentalmente K^+ y H^+), lo que finalmente compromete la viabilidad de la membrana. La disminución del ergosterol de la membrana fúngica o la inhibición de su síntesis, son mecanismos relevantes, debido a su función estructural.

Otros autores sugieren que los aceites esenciales en las células eucariotas, como los hongos, pueden provocar despolarización de las membranas mitocondriales, disminuyendo el potencial de membrana, al afectar el ciclo iónico de Ca^{2+} y otros canales iónicos y reducir el gradiente de pH que afectan la bomba de protones y la reserva de ATP. Todos estos procesos cambian la fluidez de las membranas, volviéndolas muy permeables, siendo la presión oxidativa y el fracaso bioenergético los responsables de la salida de los radicales, de los iones de calcio y de las proteínas. La permeabilización interna y externa de las membranas mitocondriales conduce a la muerte celular por apoptosis y necrosis (Omidbeygi *et al.*, 2007; Bakkali *et al.*, 2008).

En la actualidad la aplicación de aceites esenciales surgen como una nueva alternativa para contrarrestar el crecimiento y desarrollo de diversos microorganismos, incluyendo hongos saprofitos y patógenos. La creciente resistencia de los hongos a los fungicidas comerciales, ha generado en la industria alimenticia grandes pérdidas pre y post cosecha, así como la pérdida del valor nutritivo de los alimentos, debido a la producción de micotoxinas (Armas *et al.*, 2011). Se pudo observar, que los extractos de las plantas estudiadas pueden ser usados como una opción en el control de hongos micotoxigénicos sobre los alimentos.

CONCLUSIONES

Los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* mostraron actividad antifúngica sobre *Aspergillus niger*.

El extracto de *Melissa officinalis* mostró mayor actividad antifúngica por el método de difusión en agar que el extracto de *Rosmarinus officinalis* en la inhibición del crecimiento de *Aspergillus niger*.

La concentración mínima inhibitoria del extracto de *Melissa officinalis* inhibió el crecimiento de *Aspergillus niger* a una concentración menor, en comparación con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

Solo los componentes volátiles del extracto de *Melissa officinalis* mostraron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*.

RECOMENDACIONES

Continuar realizando estudios para comprobar la efectividad de los extractos de plantas sobre otras especies de hongos micotoxigénicos.

Realizar métodos de obtención de aceites esenciales diferentes a los aplicados en este trabajo, para conocer la variabilidad del efecto antifúngico.

Efectuar técnicas cromatográficas para así obtener individualmente los componentes de los extractos, y evaluar la actividad antifúngica de cada uno de los mismos.

Comprobar la actividad antifúngica de otros extractos naturales, para que constituya una forma rápida, efectiva, natural y accesible para la eliminación o control de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

Acevedo, D.; Navarro, M. y Montero, P. 2013. Composición Química del Aceite Esencial de las Hojas de Toronjil (*Melissa officinalis*). *Información Tecnológica*, 24(4): 49-54.

Arenas, R. 2011. *Micología Médica Ilustrada*. Interamericana McGraw-Hill. Ciudad de México.

Armas, C.; Marquez, L.; y Pretell, C. 2011. Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.), variedad morado. *Pueblo Continente*, 22(1): 123-132

Avello, M.; López, C.; Gatica, C.; Busto, E.; Brieva, A.; Pastene, E. y Bittner, M. 2012. Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(1): 73-83.

Ávila, R.; Navarro, A.; López, O.; Dávila, R.; Melgoza, N. y Meza, R. 2011. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios. *Ciencia y Mar*, 15(43): 23-36.

Ayaz, M.; Junaid, M.; Ullah, F.; Ovais, M.; Ahmad, W.; Ahmad, S. y Zeb, A. 2016. Chemical profiling, antimicrobial and insecticidal evaluations of *Polygonum hydropiper* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16: 1-14.

Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D. y Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils-a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 446-475.

Bennett, J. y Klich, M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3): 497-516.

Bloom, E.; Bal, K.; Nyman, E.; Must, A. y Larsson, L. 2007. Mass spectrometry-based strategy for direct detection and quantification of some mycotoxins produced by *Stachybotrys* and *Aspergillus* spp. in indoor environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(13): 4211-4217.

Bluma, R.; Amaiden, M. y Etcheverry, M. 2008. Screening of Argentine plant extracts: impact on growth parameters and aflatoxin B1 accumulation by *Aspergillus section flavi*. *International Journal of Food Microbiology*, 122: 144-125.

Centeno, S.; Calvo, M.; Adelantado, C. y Figueroa, S. 2010. Antifungal activity of extracts *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* against *Aspergillus niger* and *Aspergillus ochraceus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(9): 452-455.

Centeno, S. y Carrera, Y. 2013. Actividad antifúngica y antiftatoxigénica de extractos de *Melissa officinalis* (Lamiaceae) sobre *Aspergillus flavus*. SABER. *Revista multidisciplinaria de investigación de la Universidad de Oriente*, 25(2): 185-191.

Cortés-Sánchez, A. y Mosqueda-Olivares, T. 2013. Una mirada a los organismos fúngicos: Fábricas versátiles de diversos metabolitos secundarios de interés biotecnológico. *Revista Química Viva*, 2: 64-90.

Davicino, R.; Mattar, M.; Casali, Y.; Correa, S.; Pettenati, E. y Micalizzi, B. 2007. Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista Peruana de Biología*, 14(2): 247-251.

De Souza, E.; De Olivera, E.; De Luna, K. y Paiva, C. 2005. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods. *Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal*, 48(2): 245-250.

Derwich, E.; Benziane, Z. y Chabir, R. 2011. Aromatic and medicinal plants of Morocco: chemical composition of essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Juniperus phoenicea*. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 1: 0976-4550.

Gianfrancesco, T. 2018. Actividad antifúngica del extracto de *Morinda citrifolia* sobre *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Kralj, I y Prosen, H. 2009. An overview of conventional and emerging analytical methods for the determination of mycotoxins. *International Journal of Molecular Sciences*, 10: 62-115.

Lezcano, J.; Martínez, B. y Alonso, O. 2015. Caracterización cultural y morfológica e identificación de especies de *Aspergillus* asociadas a semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú. *Pastos y Forrajes*, 38(2): 176-181.

Lorenzetti, E.; Monteiro, F.; Souza, P; Scalice, H.; Diogo, J. y Pires, M. 2011. Bioactividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. *Revista Brasileira de Plantas Medicinales*, 13: 619-627.

Magro, A.; Carolino, M.; Bastos, M. y Mexia, A. 2006. Efficacy of plant extracts against stored products fungi. *Revista Iberoamericana de Micología*, 23: 176-178.

Márquez, G. 2012. Actividad antifúngica de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Melissa officinalis* (toronjil) contra especies del género *Candida*, aisladas de pacientes con vulvovaginitis. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Márquez, R.; De la Rosa, C. y Mercado, A. 2007. Actividad antifúngica del extracto total en etanol de las hojas frescas de *Pedilanthus tithymaloides* L Point (ultimorrial). *Scientia Et Technica*, XIII(33): 155-159.

Martínez, M. 2018. Actividad antifúngica de *Melissa officinalis* (Toronjil) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Aspergillus flavus*. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Martínez, P. 2013. Evaluación del poder antifúngico de los extractos de romero, menta y salvia sobre hongos que atacan naranjas. *Revista sobre Estudios e Investigaciones del Saber Académico*, 7(7): 28-32.

Montes-Belmont, R. 2009. Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología*, 29: 73-82.

Omidbeygi, M.; Barzegar, M.; Hamidi, Z. y Naghdibadi, N. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus favus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 18: 1518-1523.

Ostry, V.; Malir, F. y Ruprich, J. 2013. Producers and important dietary sources of ochratoxin A and citrinin. *Toxins*, 5(9): 1574-86.

Ozcan, M. y Chalchat, J. 2008. Composition and antifungal activity of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(7): 691-698.

Pérez-Delgado, O. y Vallejos-Campos, E. 2019. Actividad antifúngica *in vitro* del extracto crudo acuoso de *Rosmarinus officinalis* contra *Candida albicans*. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 10(1): 45-51.

Proaño, J.; Urresta, P. y Racines, M. 2017. Efecto antimicrobiano de la vitamina C, vitamina E y aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) en salchichas de pollo tipo Frankfurt. *Revista Industrial Data*, 20(2): 27-36.

Rasooli, I.; Hadi, M.; Yadegarina, D.; Gachkar, L.; Allameh, A. y Bagher, M. 2008. Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum capticum* L. essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 122: 135-139.

Rasooli, I. y Mirmostafa, S. 2003. Bacterial susceptibility and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2200-2205.

Ravelo, A.; Rubio, C.; Gutiérrez, A. y De la Torre, A. 2011. La ocratoxina A en alimentos de consumo humano. *Nutrición Hospitalaria*, 26(6): 1215-1226.

- Requena, F.; Saume, E. y León, A. 2005. Micotoxinas: Riesgo y prevención. *Zootecnia Tropical*, 23(4): 393-410.
- Reyes, F.; Palou, E. y López, A. 2012. Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(1): 29-39.
- Rosas-Gallo, A. y López-Malo, A. 2011. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*). *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 5(1): 41-50.
- Ross, Z.; Gara, E.; Hill, D.; Sleightholme, H. y Maslin, D. 2001. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: Evaluation of 19 methodologies and comparisons with garlic oil sulphides and garlic powder. *Applied and Environmental Microbiology*, 6(1): 80-475.
- Salazar, L. 2016. Actividad antifúngica y antimicotoxigénica del extracto crudo de *Melissa officinalis* contra especies de *Aspergillus* y *Fusarium moniliforme* aisladas de alimentos. Tesis de Maestría. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Samson, R.; Visagie, C.; Houbraeken, J.; Hong, S.; Hubka, V.; Klaassen, C.; Perrone, G.; Seifert, K.; Susca, A.; Tanney, J.; Varga, J.; Kocsubé, S.; Szigeti, G.; Yaguchi, T. y Frisvad, J. 2014. Phylogeny, identification and nomenclatura of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78: 141-173.
- Sánchez, E.; León, M.; Chávez, D.; Hechevarría, I. y Pino, J. 2010. Caracterización farmacognóstica de *Melissa officinalis* L. (toronjil). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(4): 198-208.
- Sanchis, V.; Marín, S. y Ramos, A. 2000. Control de micotoxinas. Situación legislativa actual. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17: S69-S75.
- Sardans, J.; Roda, F. y Peñuelas, J. 2005. Effects of water and nutrient pulse supply on *Rosmarinus officinalis* growth, nutrient content and flowering in the field. *Environmental and Experimental Botany*, 53(1): 1-11.
- Serrano-Coll, H. y Cardona-Castro, N. 2015. Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *Revista CES Medicina*, 29(1): 143-152.
- Triola, M. 2009. *Estadística*. Décima edición. Editorial Pearson. Ciudad de México.
- Vaillant, D.; Romeu, C.; Ramos, E.; González, M.; Ramírez, R. y González, J. 2009. Efecto inhibitorio *in vitro* de cinco monoterpenos de aceites esenciales sobre un aislado de *Rhizoctonia solani* en papa (*Solanum tuberosum* L.). *Fitosanidad*, 3(3): 197- 200.
- Velásquez, M.; Álvarez, R.; Tamayo, P. y Carvalho, C. 2014. Evaluación *in vitro* de la actividad fungistática del aceite esencial de mandarina sobre el crecimiento de *Penicillium* sp. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1): 7-14.

HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Actividad antifúngica de los extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Melissa officinalis</i> sobre <i>Aspergillus niger</i>
---------------	---

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Camino M. Rosa V.	CVLAC	23.898.740
	e-mail	rosavirginiacamino@gmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Extractos de Plantas, extracto etanólico, *Rosmarinus officinalis*, *Melissa officinalis*, *Aspergillus niger*, ocratoxinas

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

RESUMEN

Aspergillus niger es un hongo filamentoso, ampliamente distribuido en la naturaleza y principal contaminante del suelo y los alimentos. Debido al uso desmesurado de fungicidas químicos, así como la utilización de preservantes en los alimentos, ha generado el desarrollo de resistencia. Es por ello, que la búsqueda de nuevas sustancias antifúngicas de origen vegetal, ha surgido como una alternativa para el control de los hongos, debido a su fácil obtención, versatilidad y naturaleza compleja. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus niger*. Para ello, se preparó la suspensión de conidios del microorganismo en estudio y la actividad antifúngica de dichos extractos, se determinó por el método de difusión en agar, concentración mínima inhibitoria (CMI) y por volatilización de los componentes. Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica de los extractos, se establecieron al observar cualquier halo de inhibición en el crecimiento fúngico. Por el método de difusión en agar, el promedio de los halos de inhibición para *R. officinalis* fue de 9,00 mm de diámetro, mientras que para *M. officinalis* dichos halos arrojaron un promedio de 10,00 mm de diámetro. La concentración mínima inhibitoria (CMI) para el extracto de *R. officinalis* fue de 53,75 mg/ml y 40,75 mg/ml para *M. officinalis*. En cuanto a la actividad antifúngica por volatilización de los componentes, se obtuvieron halos de inhibición promedios, de 8,00 mm de diámetro para *M. officinalis*, mientras que *R. officinalis* no presentó inhibición del crecimiento fúngico. En conclusión, los extractos de las plantas utilizadas en esta investigación presentan actividad antifúngica sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Nombres y Apellidos	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Luz Salazar	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	13.630.199
	e-mail	luz31salazar@gmail.com
Josefa Díaz	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	5.007.425
	e-mail	diazuv@gmail.com
William Henríquez	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	8.249.952
	e-mail	whenriquez66@gmail.com

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2020	02	05
------	----	----

Lenguaje: SPA

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Curso Especial de Grado	Application/word
Tesis-DeCamino,Rosa.doc	

Alcance:**Espacial:****Opcional****Temporal:****Opcional****Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado en Bioanálisis****Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura****Área de Estudio: Bioanálisis****Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Universidad de Oriente**

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *[Signature]*
FECHA *5/8/09* HORA *5:30*

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

[Signature]
JUAN A. BOLANOS CUNPELO
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/manuja

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.


Firma
Autor


Firma
Tutor