



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

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE *Melissa officinalis* (TORONJIL) Y *Rosmarinus officinalis*
(ROMERO) SOBRE *Aspergillus flavus*
(Modalidad: Tesis de Grado)

MARÍA FRANCIA MARTÍNEZ GUTIÉRREZ

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

CUMANÁ, 2018

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE *Melissa officinalis* (TORONJIL) Y *Rosmarinus officinalis*
(ROMERO) SOBRE *Aspergillus flavus*

APROBADO POR

M.Sc. Luz Milagros Salazar
Asesora

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO.....	II
LISTA DE TABLAS.....	III
LISTA DE FIGURAS	IV
RESUMEN.....	V
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 por volatilización de componentes de los extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Melissa officinalis</i>	8
Análisis de resultados	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	10
CONCLUSIONES	17
RECOMENDACIONES	18
BIBLIOGRAFÍA.....	19
HOJAS DE METADATOS	22

DEDICATORIA

A

Mi Dios por ayudarme, bendecirme y guiarme en cada paso, pequeño y grande que di, por todas las dificultades que se presentaron en mi camino, me dio las fuerzas y lucidez para afrontarlas y volverme más fuerte y perseverante. Muy agradecida por cada uno de los aciertos y alegrías que me permitió vivir durante toda mi carrera.

Mi familia directa, mis adoradas madres Carmen y Yorgelina Gutiérrez, mi preciado tío Eriko Bastardo y mis hermanos Edward, Eriko y Elianny por quererme, ayudarme, apoyarme y enseñarme todos los valores y principios con los cuales he aprendido a convivir en una sociedad cada día más juzgada y llena de prejuicios.

Mi amiga y hermana de carrera y sueños, Daniela por estar conmigo en cada momento por furtivo que fuera, apoyándome y en muchísimas ocasiones dando buenos consejos para enfrentar situaciones adversas.

AGRADECIMIENTO

A

La Profesora Luz Salazar por aceptar ser mi asesora en la elaboración de la tesis de grado necesaria para optar al título universitario de licenciada en Bioanálisis, y guiarme a través de sus conocimientos para llegar al final de mi preparación como profesional.

Greycyskelis Rincones por ayudarme en las pequeñas e importantes colaboraciones de materiales de laboratorio para la ejecución de los procedimientos inherentes a esta investigación.

Todos los profesores del departamento de Bioanálisis por entregar sus conocimientos en pro de la formación profesional de cada uno de los estudiantes a su cargo, especialmente a la profesora Yoleida Rodríguez que con su peculiar forma de ser y de enseñar inculcó en mí, desde tempranos semestres, nuevas formas de ver el ejercicio profesional.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Halos de inhibición promedio del extracto etanólico de hojas y tallos de <i>Melissa officinalis</i> y <i>Rosmarinus officinalis</i> contra <i>Aspergillus flavus</i>	10
Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas y tallos de <i>Melissa officinalis</i> frente a <i>Aspergillus flavus</i>	12
Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas y tallos de <i>Rosmarinus officinalis</i> frente a <i>Aspergillus flavus</i>	12
Tabla 4. Valores promedios de halos de inhibición de los extractos etanólicos de hojas y tallos de <i>Melissa officinalis</i> y <i>Rosmarinus officinalis</i> contra <i>Aspergillus flavus</i> por el método de volatilización de los componentes.....	13

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Plantas utilizadas para la obtención de los extractos etanólicos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* A. Hojas y tallos de *Rosmarinus officinalis* fresco. B. Hojas y tallos de *Melissa officinalis* fresco..... 6
- Figura 2. Efecto antifúngico del extracto etanólico de hojas y tallos de *Melissa officinalis* sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus flavus*. B: PDA inoculado con *Aspergillus flavus* + disco impregnado con el extracto de *Melissa officinalis*)..... 10
- Figura 3. Actividad antifúngica del extracto etanólicos de hojas y tallos de *Rosmarinus officinalis* (Romero) contra *Aspergillus flavus*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus flavus*. B: PDA inoculado con *Aspergillus flavus* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*). 11
- Figura 4. Actividad antifúngica por volatilización de los componentes del extracto etanólico de hojas y tallos de *Melissa officinalis* (Toronjil) contra *Aspergillus flavus*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus flavus*. B: PDA inoculado con *Aspergillus flavus* + disco impregnado con el extracto de *Melissa officinalis*). 14
- Figura 5. Actividad antifúngica por volatilización de los componentes del extracto etanólico de hojas y tallos de *Rosmarinus officinalis* (Romero) contra *Aspergillus flavus*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus flavus*. B: PDA inoculado con *Aspergillus flavus* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*). 14

RESUMEN

Aspergillus flavus es un hongo filamentoso productor de aflatoxinas, micotoxinas potencialmente contaminantes del suelo y causantes de intoxicaciones y lesiones agudas o crónicas en el hombre. Para inhibir su desarrollo se ha evaluado la actividad antifúngica de los extractos de plantas silvestres para la búsqueda de nuevas alternativas en el control de hongos y sus micotoxinas. Para ello, se obtuvieron extractos etanólicos a partir de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis*. Seguidamente se comprobó la actividad antifúngica de los extractos obtenidos mediante difusión en agar, empleando discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro, y mediante el efecto de los vapores emitidos por los extractos etanólicos; así como también se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los resultados de la actividad antifúngica por el método de difusión en agar arrojaron en promedio halos de inhibición de 4,6 mm de diámetro para *Melissa officinalis* y de 3,5 mm para *Rosmarinus officinalis*, mientras que en la actividad antifúngica por efecto de los vapores fue de 7,3 mm y 5,3 mm, respectivamente. La concentración del extracto etanólico de *Melissa officinalis* fue 170 mg/ml y de *Rosmarinus officinalis* 316 mg/ml. La concentración mínima inhibitoria fue de 42,50 mg/ml para *Melissa officinalis* y 158 mg/ml para *Rosmarinus officinalis*. En conclusión, los extractos etanólico de hojas y tallos de las plantas usadas presentaron actividad antifúngica sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus*.

INTRODUCCIÓN

Los hongos constituyen un complejo y fascinante grupo de organismos, tan grande que se calculan más de 70 000 especies, pero se cree que hay más de un millón y medio. Al proliferar, estos microorganismos asumen dos formas básicas, levaduras y mohos. Esta última forma ocurre por la producción de colonias filamentosas, cuya estructura fúngica consta de un complejo llamado talo o micelio que a su vez está constituido por múltiples filamentos o hifas (hifomicetos o mohos) (Arenas, 2008; Brooks *et al.*, 2011).

Fisiológicamente, los hongos filamentosos se adaptan a condiciones más severas que otros microorganismos, su desarrollo en sustratos puede ser en concentraciones de azúcares elevados, hasta el 10%, debido a que éstos no son sensibles a la presión osmótica elevada, creciendo muy lentamente de cinco a siete días, y resistiendo condiciones de acidez relativamente altas (pH 2–9, óptimo pH 5–6) (Arias y Piñeros, 2008).

Muchos hongos producen sustancias dañinas llamadas micotoxinas que originan intoxicaciones y lesiones agudas o crónicas; son metabolitos secundarios y sus efectos no dependen de la infección o de la viabilidad del hongo. Las micotoxinas están formadas por una serie de reacciones catalizadas a partir de intermediarios bioquímicamente simples del metabolismo primario; por ejemplo: acetato, mebolato, malonato y ciertos aminoácidos, y está asociada al proceso de esporulación del hongo, estrechamente relacionado con las condiciones ambientales y la concentración de nutrientes en el medio (Bogantes *et al.*, 2004; Brooks *et al.*, 2011).

Las micotoxinas son producidas, principalmente, por hongos filamentosos bajo condiciones óptimas de temperatura que oscilan entre 20 y 25°C, requieren de un pH entre 4 y 8, y una humedad relativa de 80 a 90%. Dentro de las familias más importantes de micotoxinas se encuentran las aflatoxinas, los tricoticenos, la ocratoxina A, las fumonisinas y la zearalenona; producidas, principalmente, por los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Duarte y Villamil, 2006; Serrano y Cardona 2015).

La mayoría de las especies del género *Aspergillus* son hongos filamentosos saprófitos que desempeñan un papel esencial en la degradación de la materia orgánica. Su hábitat natural es el suelo donde sobreviven y se desarrollan sobre materia en descomposición; este género es

uno de los más abundantes en la naturaleza y puede encontrarse en cualquier ambiente (Martínez *et al.*, 2013).

La estructura básica de las aflatoxinas (AF) consiste en un anillo dihidro-difurano o tetrahidro-difurano unido a una cumarina con un anillo de cinco o seis átomos de carbono. Hay alrededor de 20 diferentes tipos de aflatoxinas, las más importantes por su alto potencial cancerígeno, mutágeno y teratógeno son: B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁), G₂ (AFG₂), M₁ (AFM₁), M₂ (AFM₂), P₁ (AFP₁), Q₁ (AFQ₁) y D (AFD), este último derivado del tratamiento de la AFB₁ con amonio. La AFB₁ es la más peligrosa y tóxica de todas, y es producida por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. En concordancia con lo anterior, las aflatoxinas se pueden presentar en cualquier parte del mundo, ya que *Aspergillus flavus* crece a temperaturas de 25°C y con una humedad relativa que abarca desde 70 a 90% de acuerdo a diversos autores; asimismo, las micotoxinas se suelen formar al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del hongo (Figueroa, 2006; Martínez *et al.*, 2013).

Esta toxina se relaciona con el desarrollo de carcinoma hepatocelular en poblaciones que consumen alimentos contaminados. Su mecanismo de acción tóxica, involucra la formación de ligandos entre uno de sus metabolitos, producido en el hígado luego de la ingestión de la toxina, con el ADN de los hepatocitos, causando alteraciones en su replicación; está clasificada dentro del grupo I, según la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), por su efecto carcinogénico para humanos y animales (Duarte y Villamil, 2006).

Las aflatoxinas se encuentran, principalmente, en productos agrícolas como las materias primas para la preparación de alimentos balanceados para ganado en forma de contaminantes o bien, como residuos tóxicos de los productos de dicha explotación zootécnica como la leche, huevo o carne y, su incidencia en alimentos para humanos se asocian con el desarrollo de cáncer de hígado y de pulmón. Se ha establecido que el crecimiento de *Aspergillus* y la consecuente contaminación de los productos alimenticios con aflatoxinas son consecuencia de la interacción entre el hongo, el hospedero y el ambiente. La interacción de dichos factores determina la infestación y colonización del sustrato (alimentos), así como el tipo y la cantidad de las aflatoxinas producidas (Martínez *et al.*, 2013).

Duarte y Villamil (2006) indicaron que las micotoxinas constituyen un problema en el ámbito mundial por su alta incidencia y niveles de ocurrencia en los alimentos para humanos y animales. Las condiciones de colonización de los sustratos por hongos micotoxigénicos, así como su posterior contaminación con micotoxinas juegan un papel fundamental en las estrategias de vigilancia y control.

Para el monitoreo de la contaminación de los alimentos por estas sustancias se han empleado diversos métodos químicos, físicos y de vigilancia, para prevenir los efectos nocivos causados. En contraste, Sánchez y Jiménez (2015) hacen mención sobre los extractos y/o aceites esenciales obtenidos a través de plantas, los cuales han ido ganando popularidad e interés científico, dado que se ha reportado que presentan actividad antibacteriana y antifúngica, cuya actividad se atribuye a los diferentes metabolitos secundarios que están presentes en los extractos. Estos aceites esenciales son mezclas de compuestos químicos orgánicos provenientes de una misma familia química, los terpenoides, los cuales mediante la asociación o no a otros componentes, generalmente volátiles, generan el olor o aroma de la planta (Torres, 2011).

Los extractos de aceites esenciales no se consumen de una forma pura o directa sino que se utilizan como insumos o materia prima en los diferentes campos industriales. Existe una gran variedad de plantas que tienen diferentes usos conforme a la cultura de cada región. Muchas de estas plantas se han relacionado con propiedades antimicrobianas, encontrándose alrededor de 1 340 plantas a las que se le atribuyen propiedades antimicrobianas y en las cuales se han identificado alrededor de 30 000 componentes activos (Torres, 2011; Reyes *et al.*, 2012).

La composición de los aceites esenciales varía de acuerdo a las diferentes partes de la planta de la cual se extrae, puesto que sus compuestos volátiles son los que presentan el efecto antimicrobiano, la determinación de su composición es importante. Se ha demostrado que los componentes volátiles de estos aceites derivan de un grupo de terpenoides, sesquiterpenos y posiblemente diterpenos, los cuales a su vez contienen diferentes grupos de hidrocarburos, ácidos, alcoholes, aldehídos, ésteres, éteres y cetonas. Por lo tanto, de acuerdo al grupo químico funcional de cada componente del aceite esencial se derivan sus componentes principales (Reyes *et al.*, 2012).

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 que lleva 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).

Rosmarinus officinalis, pertenece a la familia Lamiaceae (Labiatae *Labiadas*), es una planta arbustiva con tallos prismáticos, las hojas son estrechas, agudas y pequeñas, tienen forma de espigas de color verde brillante con márgenes revolutos y tallos leñosos y ramificados. Es una de las plantas con potencial de acción medicinal o funcional que tiene la característica de poseer un elevado contenido en sustancias o principios activos, con propiedades químicas, bioquímicas u organolépticas muy específicas; se han reportado diversos compuestos químicos agrupados, de manera general, por diversos autores, en ácidos fenólicos, flavonoides, aceite esencial, ácidos triterpénicos y alcoholes triterpénicos, siendo el aceite esencial el componente más estudiado cualitativamente. Se ha identificado el efecto del extracto etanólico de romero sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus* y aflatoxina B₁, dicho estudio resalta una efectividad de inhibición de la producción de la aflatoxina B₁ en 83%, por lo que se podría reemplazar los fungicidas químicos y proporcionar un método alternativo para proteger los productos agrícolas de la producción de aflatoxina B₁ (Ávila *et al.*, 2011).

Por otra parte, Vallejos (2017) comprobó la actividad antifúngica del extracto de *Rosmarinus officinalis* contra *Cándida albicans* mediante métodos de difusión en agar; en el estudio se evidenciaron zonas de inhibición de crecimiento donde las medidas de los halos varió dependiendo de la cepa de *Candida albicans* utilizada y de las concentraciones del extracto que fueron empleadas, teniendo mayor inhibición los pozos donde la concentración

del extracto fue mayor, obteniendo que a una concentración de 40 mg/ml el extracto ejerció efecto antifúngico al producir una zona de inhibición de 21 mm de diámetro.

Melissa officinalis (Toronjil), al igual que *Rosmarinus officinalis* (Romero), presenta 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 propiedades tranquilizantes, digestivas, antiespasmódicas y antifúngicas. Se demostró 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 promediaron 22 mm de diámetro, mientras que la concentración mínima inhibitoria se observó a una concentración de 23,30 mg/ml (Márquez, 2012; Centeno y Carrera, 2013).

El uso y empleo de los extractos naturales responden, principalmente, al conocimiento tradicional relacionado con las plantas medicinales y a su bajo costo, comparado con los conservantes químicos que existen en el mercado. Su elección para el control de enfermedades de importancia agrícola es cada vez más aceptada debido a la necesidad de emplear compuestos eficaces que no provoquen efectos negativos para la salud y el ambiente, proponiéndose con gran perspicacia los extractos vegetales como método natural y sencillo para prevenir el crecimiento fúngico y sus daños colaterales, tanto en humanos, plantas y animales.

METODOLOGÍA

Material Vegetal

Las plantas para la obtención de los extractos etanólicos, *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis*, fueron adquiridas frescas en el mercado municipal de la ciudad de Cumaná, estado Sucre (Figura 1), 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 estufa (marca Felisa, México) a 45°C, hasta que estuvieron completamente secos.



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

Extracción etanólica

Las hojas y tallos de las plantas se trituraron en un mortero de cerámica, para así obtener un fino polvo con el cual se procedió a preparar el extracto, usando como solvente etanol al 80% (marca Riedel de Haen).

El extracto se obtuvo siguiendo la metodología de Bluma *et al.* (2008). Se mezclaron 3 g de polvo de las hojas y tallos con 20 ml de etanol al 80%, esta mezcla se dejó en reposo durante 48 horas a temperatura ambiente y en oscuridad. Seguidamente, el extracto obtenido se filtró sobre papel de filtro Whatman N°1 y fue vertido en placas de Petri, previamente pesadas; posteriormente, las placas que contenían la solución 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. Cada vial fue mezclado profusamente al momento de usarlo. La concentración del extracto etanólico de hojas y tallos de *Melissa officinalis* fue de 170 mg/ml y de *Rosmarinus officinalis* 316 mg/ml.

Cepa fúngica

Se empleó una cepa de *Aspergillus flavus* (código: DB146S) 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 flavus* fue cultivado en tubos de ensayo con agar papa dextrosa (PDA) marca Dibico, 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 fisiológica 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 de los extractos 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 conteniendo PDA, en las cuales fueron diseminados uniformemente 100 μl de

la suspensión de conidios de la cepa utilizando un asa de Digralski. Seguidamente, se impregnaron discos de papel filtro estériles de seis milímetros (mm) de diámetro con los extractos 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. La actividad antifúngica de los extractos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus flavus* se evidenció con la aparición de halos de inhibición del crecimiento fúngico alrededor de los discos.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizó siguiendo la metodología descrita por Rasooli y Mirmostafa (2003) y Rasooli *et al.* (2008) a partir de la concentración que se obtuvo de los extractos etanólicos, se tomaron 100 µl y se realizaron diluciones seriadas de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* (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 flavus* ajustada a 10^6 conidios/ml. Las placas se incubaron a 28°C , durante 48 horas. Las lecturas se realizaron cualitativamente y la CMI correspondió a la concentración presente en el micropozo con la mayor dilución que no mostró crecimiento fúngico.

Evaluación de la actividad antifúngica por volatilización de componentes de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*

La actividad antifúngica por volatilización de los componentes de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Ross *et al.* (2001), se utilizaron placas de Petri que contenían agar PDA, luego, fueron diseminados de manera uniforme y por separado, 100 µl de la suspensión de conidios de *Aspergillus flavus*.

Seguidamente, se impregnaron discos de papel de filtro estériles Whatman N° 1 (Whatman, EEUU) con 10 µl de los extractos y se colocaron en la cara posterior de las tapas de las placas de Petri sellándolas con cinta Parafilm. Se contó con un control de crecimiento

de placas inoculadas con 100 μ l la suspensión de conidios. Las placas fueron incubadas durante un lapso de tiempo de 3 a 5 días a una temperatura de 28°C y observadas 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 en la investigación se presentan mediante estadística descriptiva, a través de tablas y figuras (Triola, 2009), para comparar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus flavus*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* por el método de difusión en agar se puede notar que los mismos tienen propiedades antifúngicas sobre la especie fúngica probada. Sin embargo, se observó que el extracto de *Melissa officinalis* tuvo mayor inhibición sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus* con halos de inhibición promedio de 4,60 mm de diámetro mientras que los halos de inhibición de *Rosmarinus officinalis* fueron de 3,60 mm (Tabla 1).

Tabla 1. Halos de inhibición promedio del extracto etanólico de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* contra *Aspergillus flavus*

Extracto	Microorganismo	Halos de inhibición
<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	4,60 mm
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	3,60 mm

En las figuras 2 y 3, se muestran los halos de inhibición producidos por los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus flavus*, donde se puede apreciar que los extractos utilizados ejercieron actividad antifúngica contra el crecimiento de la especie evaluada durante 72 horas de incubación.

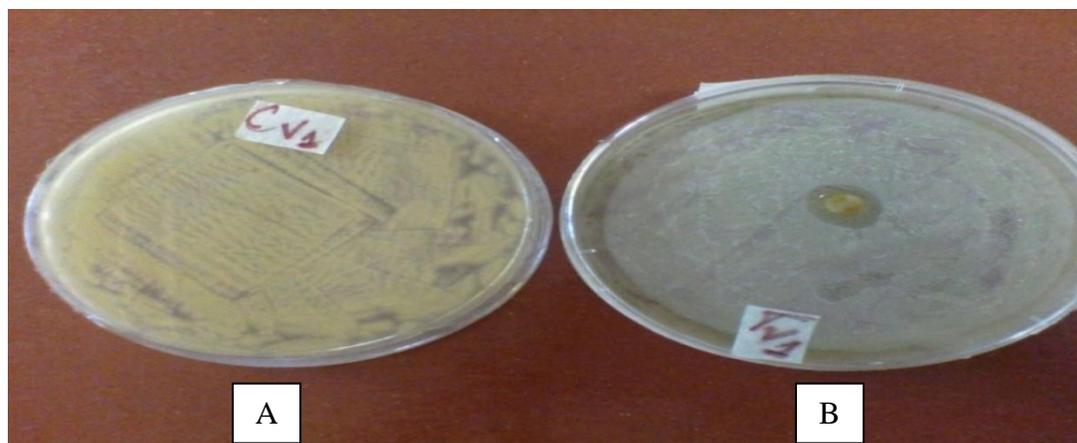


Figura 2. Efecto antifúngico del extracto etanólico de hojas y tallos de *Melissa officinalis* sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus flavus*. B: PDA inoculado con *Aspergillus flavus* + disco impregnado con el extracto de *Melissa officinalis*.



Figura 3. Actividad antifúngica del extracto etanólicos de hojas y tallos de *Rosmarinus officinalis* (Romero) contra *Aspergillus flavus*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus flavus*. B: PDA inoculado con *Aspergillus flavus* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

Moreno *et al.* (2011), en un estudio de la actividad antifúngica de extractos alcohólicos de *Larrea tridentata* (Gobernadora) mediante la técnica de difusión en agar, reportó la inhibición del crecimiento de *Aspergillus flavus* al obtener halos de inhibición que oscilan entre los 5 y 22 mm de diámetro de acuerdo a las diferentes concentraciones evaluadas y al tipo de solvente utilizado, teniendo halos de 12 a 21 mm de diámetro para extractos etanólicos, de 5 a 20 mm para acetona y entre 7 y 20 mm para metanol.

Por su parte, Centeno y Carrera (2013) evaluaron el extracto de toronjil, cuyo efecto antifúngico quedó de manifiesto demostrando, en promedio, halos de inhibición de 22 mm de diámetro. Martínez (2013) indicó que los extractos de Romero, Menta y Salvia obtenidos por método sólido-líquido con alcohol evaporando totalmente el solvente, presentaron efectos inhibitorios sobre las cepas de *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*, con un promedio de halos de inhibición de 12 mm para todas las especies mencionadas. Mahboobeh *et al.* (2016) establecieron que hubo actividad antifúngica con los extractos de *Zataria multiflora* (ZOE) con nanopartículas sólidas de lípidos (ZOE-SLN) en las diferentes especies de *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*.

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

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas y tallos de *Melissa officinalis* frente a *Aspergillus flavus*

Extracto	Microorganismo	Concentración mínima inhibitoria (mg/ml)				
		85, 00	42, 50	21, 25	10, 62	5, 31
<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	+	+	+

-: No hubo crecimiento. +: Crecimiento.

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas y tallos de *Rosmarinus officinalis* frente a *Aspergillus flavus*.

Extracto	Microorganismo	Concentración mínima inhibitoria (mg/ml)				
		158, 00	79, 00	39, 50	19, 75	9, 87
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	-	+	+	+	+

-: No hubo crecimiento. +: Crecimiento

El extracto etanólico de *Melissa officinalis* inhibió el crecimiento de *Aspergillus flavus* a una concentración de 42,50 mg/ml, mientras que el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* inhibió el crecimiento fúngico a una concentración de 158 mg/ml. Ambos extractos inhibieron el crecimiento de *Aspergillus flavus*, sin embargo la mayor actividad se pudo observar con el extracto etanólico de *Melissa officinalis* ya que, requirió una menor concentración en comparación con el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis*.

Lozano *et al.* (2011) valoraron la actividad antimicrobiana de extractos de cuatro especies de *Agave* sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, obteniendo como resultado que los extractos metanólicos de hojas y flores de *Agave aspérrima* fueron los más activos, presentando concentraciones mínimas inhibitorias de $0,95 \pm 0,37$ a $1 \pm 0,5$ mg/ml.

Alcalá (2012) señaló que el extracto de *Thymus vulgaris* inhibió el crecimiento de *Aspergillus flavus* a una concentración de 47,50 mg/ml. Por su parte, Marquez (2012) reportó que los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis* inhibieron el crecimiento de *Candida albicans* a concentraciones de 11,20 mg/ml y de 44,00 mg/ml, respectivamente. En el mismo sentido, González *et al.* (2015) reportaron que el extracto etanólico de *Agave scabra* presenta actividad antifúngica frente a *Aspergillus flavus* y *A.*

parasiticus, con una CMI de 0,5 a 2,0 mg/ml respectivamente, mientras que Ayaz *et al.* (2016) señalaron concentraciones mínimas inhibitorias para *A. flavus* y *A. niger* de 23,33 y 125,00 µg/ml respectivamente, por el extracto alcohólico de *Polygonum hydropiper*.

Vallejos (2017) demostró que el extracto acuoso de *Ocimum sanctum* ejerce efecto antifúngico a diferentes concentraciones en varias especies de hongos; encontrando que a una concentración del 40% el extracto fue eficaz al inhibir el crecimiento de *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp., y *Cladosporium* sp. Mientras que el 30% de extracto vegetal es efectivo para *Curvularia lunata*.

Torres *et al.* (2017) estudió extractos de hojas de *Luma chequen* señalando una concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Luma chequen*, de 1, 56 mg/ml sobre *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis*.

Al evaluar la actividad inhibitoria de los compuestos volátiles de los extractos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* se observó que los vapores emitidos por los mismos inhibieron el crecimiento de *Aspergillus flavus* produciendo halos de inhibición promedios de 7,30 mm y 5,30 mm, respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Valores promedios de halos de inhibición de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* contra *Aspergillus flavus* por el método de volatilización de los componentes.

Extracto	Microorganismo	Halos de inhibición
<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	7, 30 mm
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	5, 30 mm

En las figuras 4 y 5, se ilustran los halos de inhibición producidos por el efecto inhibitorio de los componentes volátiles de los extractos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus flavus*, donde se puede evidenciar que los extractos utilizados ejercen actividad antifúngica sobre el crecimiento de la especie evaluada durante 72 horas de incubación.

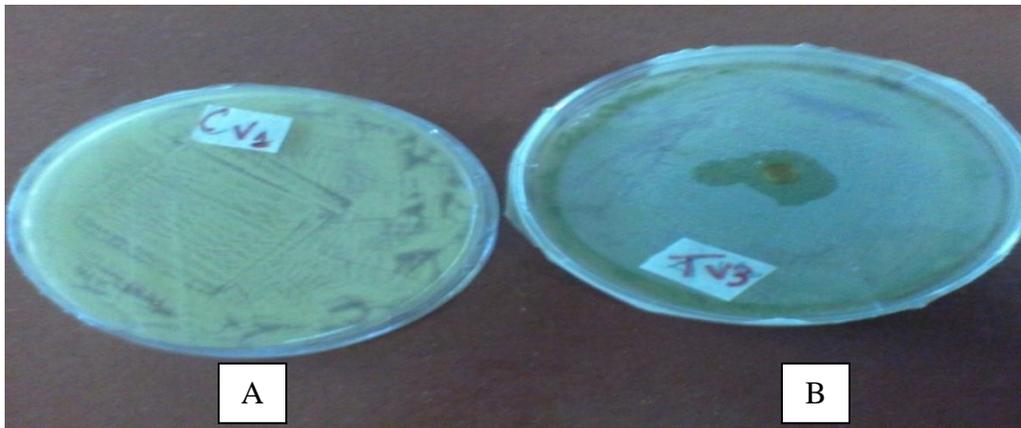


Figura 4. Actividad antifúngica por volatilización de los componentes del extracto etanólico de hojas y tallos de *Melissa officinalis* (Toronjil) contra *Aspergillus flavus*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus flavus*. B: PDA inoculado con *Aspergillus flavus* + disco impregnado con el extracto de *Melissa officinalis*.

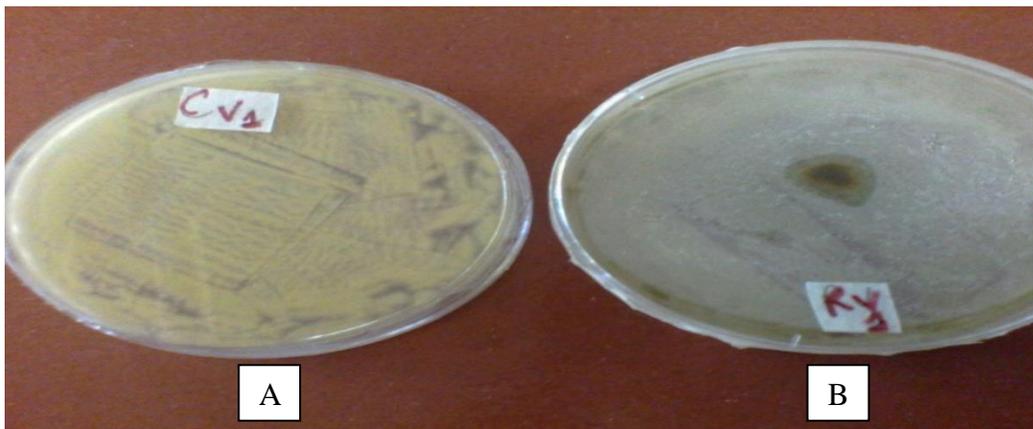


Figura 5. Actividad antifúngica por volatilización de los componentes del extracto etanólico de hojas y tallos de *Rosmarinus officinalis* (Romero) contra *Aspergillus flavus*. A: Control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *Aspergillus flavus*. B: PDA inoculado con *Aspergillus flavus* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

Phillips *et al.* (2011) determinaron que los vapores del aceite esencial de *Citrus* inhibió completamente la esporulación de *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* y *Alternaria alternata*. Reyes *et al.* (2012) mencionan que la composición de los aceites esenciales varía de acuerdo a las diferentes partes de la planta de la cual se extrae, puesto que sus compuestos volátiles son los que presentan el efecto antimicrobiano, la determinación de su composición es importante. Resalta que algunas investigaciones han reportado que el uso de vapores generados por los aceites esenciales tiene mayor efecto antimicrobiano en comparación con el contacto directo. Esto ha tenido mayor impacto contra mohos, ya que debido a su crecimiento

superficial, ellos son más susceptibles a los vapores de aceites esenciales. Gianfrancesco, 2018 comprobó la actividad antifúngica por volatilización de los componentes del extracto vegetal de *Morinda citrifolia* contra *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger* obteniendo halos de inhibición de 6,70 mm sobre *Aspergillus flavus* y de 6,10 mm de diámetro para *Aspergillus niger*.

Se observa en cada etapa de la investigación, que el extracto de *Melissa officinalis* posee mayor actividad antifúngica que *Rosmarinus officinalis*, cuyos efectos de acuerdo a diferentes investigaciones relacionadas, se debe a la presencia en sus aceites esenciales de diversos componentes. En el caso de *Melissa officinalis* estudios fitoquímicos han demostrado la presencia de compuestos polifenólicos (ácido rosmarínico, ácido cafeico), citronella, geranial, citral, flavonoides (luteolina), α pineno, β pineno, carvacrol y taninos. Así como también por métodos de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas revelan los principales componentes químicos, destacando el eugenol con 45,47%, seguido del cariofileno, α cariofileno, 3- metil-4- isopropil fenol, germacreno D, con 40,77%, 2,94%, 1,52%, 1,17%, respectivamente, que representan más del 90% del total registrado. Mientras que en *Rosmarinus officinalis* se han reportado diversos compuestos químicos los cuales han sido agrupados de manera general por diversos autores en ácidos fenólicos, flavonoides, aceite esencial, ácidos y alcoholes triterpénicos, cuyas moléculas activas presentes son α -pineno, β -pineno, canfeno, ésteres terpénicos como el 1,8-cineol, alcanfor, linalol, verbinol, terpineol, carnosol, rosmanol, isorosmanol, 3-octanona, isobanil-acetato y β -cariofileno; los ácidos vanílico, caféico, clorogénico, rosmarínico, carnósico, ursólico, oleanólico, butilínico, betulínico, betulina, α -amirina, β -amirina, borneol, y acetato de bornilo (Ávila *et al.*, 2011; Márquez, 2012; Acevedo *et al.*, 2013).

La acción inhibitoria de los extractos sobre el crecimiento fúngico puede estar influenciada principalmente por la presencia de compuestos fitoquímicos, los cuales son biomoléculas orgánicas, responsables de este efecto inhibitorio. No se conoce con exactitud el mecanismo de acción de estos compuestos, pero puede estar relacionado con la ruptura de las membranas plasmáticas de los microorganismos a través de compuestos lipofílicos, así como también es atribuible a parte de los mecanismos bioquímicos de defensa de las plantas, quienes responden al ataque de patógenos a través de una gran cantidad de mecanismos físicos

y bioquímicos para resistir la colonización, los cuales se clasifican en defensas constitutivas o preformadas e inducibles. (Bejarano y Centeno, 2009; Martínez *et al.*, 2014).

El efecto antifúngico presentado por el extracto de *Melissa officinalis* probablemente se debe a la sinergia entre sus componentes, los cuales se combinan para actuar sobre la membrana celular, alterando su permeabilidad y rompiendo la bicapa de lípidos favoreciendo así la entrada a la célula de sus componentes, causando de esta manera la muerte celular. El extracto de romero deteriora la membrana celular de bacterias y mohos con actividad citotóxica, afectando directamente a la fase mitótica de los microorganismos (Ávila *et al.*, 2011; Márquez, 2012).

Los extractos de plantas naturales sugieren nuevas alternativas de tratamiento para evitar el crecimiento y desarrollo de diversos microorganismos, incluyendo hongos saprófitos y patógenos. Un número creciente de personas recurren a sus propiedades curativas basándose en su uso tradicional, y recientemente en el control de cosechas y conservación de alimentos, debido a que los hongos producen pérdidas significativas en los productos alimenticios y en los granos durante su almacenamiento, afectando su valor nutritivo por la producción de micotoxinas. A nivel mundial, cerca del 25% de los cereales están contaminados con micotoxinas, y más de 300 metabolitos fúngicos son tóxicos para los seres humanos y animales (Valero, 2014; Azuero, 2016). Con el efecto probado y las propiedades descritas inherentes a cada planta estudiada, se puede decir que el uso de los extractos vegetales en contacto directo y en fase de vapor, condicionan una estrategia eficaz para combatir, de forma ecológica y económica los efectos perjudiciales de los hongos sobre los alimentos.

CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* ejercen actividad antifúngica contra *Aspergillus flavus*.

El extracto de *Melissa officinalis* mostró mayor actividad antifúngica que *Rosmarinus officinalis* en la inhibición del crecimiento de *Aspergillus flavus*.

La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Melissa officinalis* sobre *Aspergillus flavus* fue de 42, 50 mg/ml y del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* correspondió a 158 mg/ml.

Los componentes volátiles de los extracto de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* mostraron actividad antifúngica sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus*.

RECOMENDACIONES

Evaluar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* sobre otras especies de hongos micotoxigénicos.

Determinar los compuestos activos de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* responsables de la actividad antifúngica.

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.

Alcalá, Z. 2012. Efecto inhibitorio de extractos de *Thymus vulgaris* sobre la concentración de aflatoxinas y ocratoxina A. Trabajo de Grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Arenas, R. 2008. *Micología Médica Ilustrada*. Tercera edición. Editorial McGraw–Hill Interamericana editores. México.

Arias, E. y Piñeros, P. 2008. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C.

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.yZeb, A. 2016. Chemical profiling, antimicrobial and insecticidal evaluations of *Polygonumhydropiper L.* *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16: 1 – 14.

Azuero, A.; Jaramillo, C.; San Martin, D. y D’Armas, H. 2016. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador, *Revista Ciencia UNEMI*, 9 (20): 11 – 18.

Bejarano, R. y Centeno S. 2009. Extracto de Citrus limón para el control de aflatoxinas y hongos aflatoxigénicos en alimentos concentrados para pollos de engorde producidos en Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 29:57 – 61.

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.

Bogantes, P.; Bogantes, D. y Bogantes, S. 2004. Aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense*, 46 (4): 174 – 178.

Brooks, G.; Carroll, K.; Butel, J.; Morse, S. y Mietzner, T. 2011. *Microbiología Médica*. Vigésima quinta edición. Editorial McGraw–Hill Interamericana editores. México.

Centeno, S. y Carrera, Y. 2013. Actividad antifúngica y antiaflatoxigénica de extractos de *Melissa officinalis* (Lamiaceae) sobre *Aspergillus flavus*. *Saber*, 25 (2): 185 – 191.

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.

Duarte, S. y Villamil, L. 2006. Micotoxinas en la Salud Pública. *Revista de Salud Pública*, 8 (1): 129 – 135.

Figuroa, E. 2006. Micotoxinas y Micotoxicosis en el ganado bovino lechero. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 5 (1): 89-94.

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

González, M.; Moreno, S.; Salcedo, S.; Pérez, E. 2015. Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de extractos de agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) sobre hongos postcosecha, *Revista internacional de botánica experimental* 84: 427 – 434.

Lozano, S.; García, N.; Heredia, R. y Castro, F. (2011). Species of *Agave* induces morphological changes in *Aspergillus parasiticus* Speare and *Aspergillus flavus* Link ex Fries. *Journal of Food Agriculture and Environment* 9: 767 – 770.

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 Grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Mahboobeh, N.; Golmohammadzadeh, S.; Arouiee, H.; Reza, M. y Neamati, H. 2016. Antifungal activity of *Zataria multiflora* essential oil-loaded solid lipid nanoparticles in vitro condition. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19: 1231 – 1237.

Martínez, H.; Hernández, S.; Reyes, C. y Vázquez, G. 2013. El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en maíz en México: Problemática y Perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31 (2): 126 – 146.

Martínez, A.; Pérez, R.; Morales, H.; Basurto, M.; Soto, J y Martínez, E. 2014. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales, *Acta Agronómica*. 64 (2): 194 – 205.

Moreno, S.; González, L.; Salcedo, S.; Cárdenas, M. y Perales, A. 2011. Efecto Antifúngico de Extractos de Gobernadora (*Larrea Tridentata* L.) sobre la inhibición in vitro de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*, 32: 193 – 205.

Phillips, C. Laird, K. y Allen, S. 2011. The use of Citri-V™® - An antimicrobial *Citrus* essential oil vapour for the control of *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata* in vitro and on food. *Food Research International*, 60: 1016 – 1020.

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 .

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

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.

Ross, Z.; Gara, E.; Hill, D.; Sleightholme, H. y Maslin, D. 2001. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulphides and garlic powder. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (1): 80 – 475.

Sánchez, G.; Vargas, A. y Jiménez, P. 2015. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de dos morfotipos de *Raphanus raphanistrum* L. sobre tres hongos fitopatógenos. *Bioagro*, 27 (1): 3 – 10.

Serrano, H. y Cardona, N. 2015. Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *Revista Corporación de Estudios en la Salud*, 29 (1): 143–151.

Torres, L. 2012. Estudio de la hidrodestilación del aceite esencial de *Lippia alba* en un destilador a escala piloto. Trabajo de Grado. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas, Universidad Industrial de Santander.

Torres, J.; León, J. y Tomas, G. 2017. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray “arrayán” frente a patógenos de origen clínico. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 37:10 – 16.

Triola, M. 2009. Estadística. Décima edición. Editorial Pearson, México.

Valero, J.; González, C. y González, R. 2014. Efecto de los extractos acuosos de hojas de plantas de gobernadora (*Larrea tridentata*), hojas en (*Flourensia cernua*) y encino (*Quercus pungens*), sobre el crecimiento micelial in vitro de hongos fitopatógenos, *Acta universitaria*, 24(5): 13 – 19.

Vallejos, C. 2017. Efecto antifúngico in vitro del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* “romero” contra *Candida albicans*. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Señor de Sipán.

HOJAS DE METADATOS

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

Título	ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE <i>Melissa officinalis</i> (TORONJIL) Y <i>Rosmarinusofficinalis</i> (ROMERO) SOBRE <i>Aspergillus flavus</i>
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Martínez Gutiérrez María Francia	CVLAC	24 739 984
	e-mail	mariafranciamg@hotmail.com
	e-mail	maria31francia@gmail.com

Palabras o frases claves:

Actividad antifúngica, extractos vegetales, aceites esenciales, hongos filamentosos, <i>Aspergillus flavus</i> , aflatoxinas.

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

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Aspergillus flavus es un hongo filamentoso productor de aflatoxinas, micotoxinas potencialmente contaminantes del suelo y causantes de intoxicaciones y lesiones agudas o crónicas en el hombre. Para inhibir su desarrollo se ha evaluado la actividad antifúngica de los extractos de plantas silvestres para la búsqueda de nuevas alternativas en el control de hongos y sus micotoxinas. Para ello, se obtuvieron extractos etanólicos a partir de hojas y tallos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis*. Seguidamente se comprobó la actividad antifúngica de los extractos obtenidos mediante difusión en agar, empleando discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro, y mediante el efecto de los vapores emitidos por los extractos etanólicos; así como también se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los resultados de la actividad antifúngica por el método de difusión en agar arrojaron en promedio halos de inhibición de 4,6 mm de diámetro para *Melissa officinalis* y de 3,5 mm para *Rosmarinus officinalis*, mientras que en la actividad antifúngica por efecto de los vapores fue de 7,3 mm y 5,3 mm, respectivamente. La concentración del extracto etanólico de *Melissa officinalis* fue 170 mg/ml y de *Rosmarinus officinalis* 316 mg/ml. La concentración mínima inhibitoria fue de 42,50 mg/ml para *Melissa officinalis* y 158 mg/ml para *Rosmarinus officinalis*. En conclusión, los extractos etanólicos de hojas y tallos de las plantas usadas presentaron actividad antifúngica sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus*.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Luz Salazar	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input checked="" type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	13 630 199
	e-mail	salazarluzmarina1975@gmail.com
	e-mail	
Evis Parra	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	10 947 421
	e-mail	eparra.28@gmail.com
	e-mail	
William Henríquez	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	8 249 952
	e-mail	whenriquez66@gmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2018	11	09

Lenguaje: SPA

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-Martínez.m.doc	Aplication/Word

Alcance:

Espacial: _____ (Opcional)

Temporal: _____ **(Opcional)**

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado (a) en Bioanálisis. _____

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado(a) _____

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 *Martínez*
FECHA *5/8/09* HORA *5:30*

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

Juan A. Bolanos Cunele
Secretario

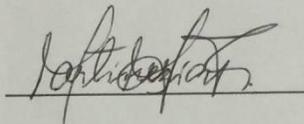


C.C.: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación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

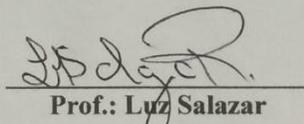
JABC/YGC/maruja

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”.



María Francia Martínez
Autor 1



Prof.: Luz Salazar
Asesor