

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DE ACEITES
ESENCIALES SOBRE EL DESARROLLO DE ESPECIES DE
FUSARIUM EN MAÍZ Y DE *PENICILLIUM* EN NUEZ PECANERA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTAN:

ANGÉLICA PAOLA CASIMIRO DELGADILLO

BRENDA OLVERA GALVÁN

ASESORA: M. EN C. MA. CRISTINA JULIA PEREZ REYES



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis :

"Evaluación del Efecto Inhibitorio de Aceites Esenciales Sobre
el Desarrollo de Especies de Fusarium en Maíz y de Penicillium
en Nuez Pecanera".

que presenta la pasante: Angélica Paola Casimiro Delgadillo
con número de cuenta: 30084326-6 para obtener el título de :
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de Enero de 2010.

PRESIDENTE

MC. Ma. Cristina Julia Pérez Reyes

Cristina Pérez Reyes

VOCAL

Dr. Enrique Salas Téllez

Enrique Salas Téllez

SECRETARIO

Dra. Carolina Moreno Ramos

Carolina Moreno Ramos

PRIMER SUPLENTE

IA. María Guadalupe López Franco

María Guadalupe López Franco

SEGUNDO SUPLENTE

IA. Sandra Margarita Rueda Enríquez

Sandra Margarita Rueda Enríquez



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE



DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES
ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis :

"Evaluación del Efecto Inhibitorio de Aceites Esenciales Sobre el Desarrollo de Especies de Fusarium en Maíz y de Penicillium en Nuez Pecanera".

que presenta la pasante: Brenda Olvera Galván
con número de cuenta: 09923898-2 para obtener el título de :
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de Enero de 2010.

PRESIDENTE	<u>MC. Ma. Cristina Julia Pérez Reyes</u>	
VOCAL	<u>Dr. Enrique Salas Téllez</u>	
SECRETARIO	<u>Dra. Carolina Moreno Ramos</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>IA. María Guadalupe López Franco</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>IA. Sandra Margarita Rueda Enríquez</u>	

DEDICATORIA

A los seres más importantes de mi vida, mis papaitos,
porque son mi razón de ser...

Los amo

... ¡Sí, se pudo!

A. Paola Casimiro Delgadillo

AGRADECIMIENTOS

A mis papás, porque gracias a su amor, apoyo incondicional y confianza, he logrado ser la persona que hoy soy. Gracias por inculcarme buenos hábitos y enseñarme a ser una persona perseverante, ayudándome a entender que todo requiere de grandes sacrificios pero que también se goza de grandes recompensas.

A mis abuelitos, que han sido como mis segundos padres; gracias por estar siempre conmigo, por sus cuidados, sus consejos y por su gran amor. Gracias Mamalicha!!! Los quiero mucho

A mis hermanos, por acompañarme a lo largo de mi vida y por hacerme saber que siempre puedo contar con ustedes. Los quiero

A Brendiux, gracias por ser mi amigocha, mi cómplice y te agradezco por acompañarme en esta etapa tan importante de mi vida. Te quiero mucho

A la maestras Cristina Pérez Reyes, mi asesora de Tesis, gracias por su paciencia, tiempo y dedicación durante este proyecto y a la maestra Josefina Moreno por su apoyo y consejos ya que fue una pieza importante para poder concluir con este proyecto.

A. Paola Casimiro Delgadillo

DEDICATORIA

A mis abuelitas, que las llevo en la sangre y viven en mi ser
¡Gracias por todos estos años!
Nunca las voy a olvidar

Guadalupe Olivares Munguía y Margarita Cerón Hernández.

Brenda Olvera Galván

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a mis padres, Elizabeth y Adrian, quienes además de darme la vida, hicieron que este día fuera posible gracias a su confianza, paciencia, apoyo, amor y comprensión, los amo.

Porque muchas veces tomamos a la ligera a aquellas personas que más nos importan, es un buen momento para agradecerle a mi abuelito Simón Galván por estar conmigo en cada etapa de mi vida

A mis tías queridas, Cora, Edith y Sandra por impulsarme a seguir adelante y por ser el ejemplo y apoyo en mi vida ¡Gracias por ser mi refugio y sobre todo por enseñarme a construir mi camino! Las amo.

A Enrique e Isaac porque me conocen desde niña y han estado conmigo en cualquier circunstancia, simplemente ¡Gracias!

A mi Miguelito y mi hermana Jessica que en todo momento estuvieron conmigo y no permitieron que este gran paso lo diera sola ¡Gracias por involucrarme en su mundo y no dejarme en mi soledad! Los quiero.

A mis primos, Betty y Rodrigo porque juntos pasamos buenos momentos haciendo cualquier cosa o simplemente nada, solo por el placer de disfrutar su compañía ¡Gracias por sus muestras de cariño! Los adoro.

A mis bebes hermosas por ser tan mágicas ya que un solo momento con ustedes bastaba para sentirme tranquila ¡Gracias por su paciencia y lealtad! No se imaginan lo importante que son para mí, las quiero.

En general, a mis amigos, que son la familia que nos permitimos elegir ¡Gracias por enseñarme que no importa que es lo que tengo en la vida, sino a quien tengo en la vida!

A mi amiga y compañera de Tesis, Paola Casimiro, agradezco la confianza que me tuviste para realizar este proyecto juntas ¡Gracias por ser paciente y tolerante conmigo! Yo sé que nuestra amistad continuará creciendo a pesar de la distancia, te quiero.

A mi asesora de Tesis, Ma. Cristina Julia Pérez Reyes, quien me guió en todo momento para poder sacar este proyecto adelante ¡Gracias por su dedicación y empeño!

Y por último, no por eso menos importantes, a mis sinodales que dedicaron parte de su tiempo para revisar este trabajo de Tesis ¡Gracias por su apoyo!

Brenda Olvera Galván.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	
2.1 Aceites esenciales	5
2.1.1 Composición Química.	6
2.1.2 Compuestos con actividad antimicrobiana.	7
2.1.3 Estructura química.	9
2.1.4 Extracción de aceites esenciales.	9
2.1.5 Usos en alimentos.	12
2.1.6 Aceites esenciales de grado alimenticio	
2.1.6.1 Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)	15
2.1.6.2 Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	18
2.1.6.3 Anís (<i>Pimpinella anisum</i> L.)	21
2.1.6.4 Cilantro (<i>Coriandrum sativum</i> L.)	23
2.1.6.5 Menta (<i>Mentha piperita</i> L.)	26
2.1.6.6 Orégano (<i>Origamun vulgare</i> L.)	28
2.1.6.7 Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i> L.)	30
2.1.6.8 Canela (<i>Cinnamomum verum</i> J.)	32
2.1.6.9 Clavo (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	35
2.2 Maíz (<i>Zea mays</i>)	
2.2.1 Generalidades.	37
2.2.2 Clasificación Científica.	38
2.2.3 Composición Química.	38
2.2.4 Descripción Botánica.	39
2.2.5 Requerimientos del Cultivo.	40
2.2.6 Producción.	41
2.2.7 Usos en la Industria de alimentos.	42

2.3 Nuez Pecanera (<i>Carya illinoensis</i>)	
2.3.1 Generalidades.	44
2.3.2 Clasificación Científica.	45
2.3.3 Composición Química.	45
2.3.4 Requerimientos del Cultivo.	46
2.3.5 Producción.	47
2.3.6 Usos en la Industria de alimentos.	47
2.4 Hongos en granos y semillas	49
2.4.1 Hongos de campo.	49
2.4.1.1 <i>Fusarium</i> .	50
2.4.2 Hongos de almacén.	54
2.4.2.1 <i>Penicillium</i> .	56
2.4.3 Hongos de deterioro avanzado.	60
III. JUSTIFICACIÓN	62
IV. OBJETIVOS	
4.1 OBJETIVO GENERAL	62
4.2 OBJETIVOS PARTICULARES	62
V. HIPÓTESIS	63
VI. CUADRO METODOLÓGICO	64
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	
7.1 Desarrollo Experimental	
7.1.1 Actividades Preliminares.	67
7.1.2 Actividades de la Fase Experimental.	69
VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	73
IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
9.1 Determinación de la micobiota presente en grano de maíz.	75
9.2 Identificación de <i>Fusarium</i> a nivel especie.	82
9.3 Determinación de la micobiota presente en nuez pecanera.	89
9.4 Identificación de <i>Penicillium</i> a nivel especie.	94
9.5 Prueba de actividad antifúngica <i>in vitro</i> de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de <i>Fusarium graminearum</i> .	100

9.6 Prueba de actividad antifúngica <i>in vitro</i> de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de <i>Fusarium moniliforme</i> .	105
9.7 Prueba de actividad antifúngica <i>in vitro</i> de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de <i>Fusarium oxysporum</i> .	109
9.8 Prueba de actividad antifúngica <i>in vitro</i> de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de <i>Penicillium olsonii</i> .	114
9.9 Prueba de actividad antifúngica <i>in vitro</i> de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de <i>Penicillium oxalicum</i> .	119
9.10 Prueba de actividad antifúngica <i>in vitro</i> de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de <i>Penicillium funiculosum</i> .	123
9.11 Prueba de actividad antifúngica <i>in vitro</i> de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de <i>Penicillium janthinellum</i> .	126
X. CONCLUSIONES	129
XI. RECOMENDACIONES	132
XII. REFERENCIAS CITADAS	133
ANEXOS	146

ÍNDICE DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1.	Principales tipos de compuestos antimicrobianos provenientes de plantas.	8
Cuadro 2.	Composición química por cada 100g de cebolla.	16
Cuadro 3.	Composición química por cada 100g de ajo crudo.	19
Cuadro 4.	Composición química por cada 100 g de anís.	22
Cuadro 5.	Composición química por cada 100g de cilantro.	24
Cuadro 6.	Composición química por cada 100 g de menta.	27
Cuadro 7.	Composición química de orégano.	29
Cuadro 8.	Composición química por cada 100 g de canela.	33
Cuadro 9.	Composición química del maíz.	38
Cuadro 10.	Producción mundial de maíz.	41
Cuadro 11.	Aplicaciones del maíz en la industria de alimentos.	43
Cuadro 12.	Composición química de nuez pecanera.	45
Cuadro 13.	Producción de nuez pecanera.	48
Cuadro 14.	Contenidos de humedad en equilibrio a humedades relativas y hongos encontrados.	55
Cuadro 15.	Mínima aw requerida para el desarrollo de diversos mohos.	61
Cuadro 16.	Procedencia de las 24 muestras de maíz.	68
Cuadro 17.	Microbiota presente en granos de maíz en PDA.	78
Cuadro 18.	Microbiota presente en granos de maíz en MSA.	81
Cuadro 19.	Aislamientos de especies de <i>Fusarium</i> en PDA.	84
Cuadro 20.	Aislamientos de especies de <i>Fusarium</i> en MSA.	85
Cuadro 21.	Características de la macro y micromorfología de <i>Fusarium graminearum</i> aislado de granos de maíz.	86
Cuadro 22.	Características de la macro y micromorfología de <i>Fusarium moniliforme</i> aislado de granos de maíz.	87

Cuadro 23.	Características de la macro y micromorfología de <i>Fusarium oxysporum</i> aislado de granos de maíz.	88
Cuadro 24.	Microbiota presente en nuez pecanera en medio de cultivo PDA.	93
Cuadro 25.	Microbiota presente en nuez pecanera en medio de cultivo MSA.	94
Cuadro 26.	Aislamiento de las especies de <i>Penicillium</i> de las Muestras en estudio.	97
Cuadro 27.	Características de la macro y micromorfología de <i>Penicillium olsonii</i> aislado de nuez pecanera.	98
Cuadro 28.	Características de la macro y micromorfología de <i>Penicillium oxalicum</i> aislado de nuez pecanera.	99
Cuadro 29.	Características de la macro y micromorfología de <i>Penicillium funiculosum</i> aislado de nuez pecanera.	100
Cuadro 30.	Características de la macro y micromorfología de <i>Penicillium janthinelum</i> aislado de nuez pecanera.	101
Cuadro 31.	Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de <i>F. graminearum</i> empleando 7 concentraciones diferentes durante un período de 360 horas.	106
Cuadro 32.	Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de <i>F. moniliforme</i> empleando 7 concentraciones diferentes durante un período de 360 horas.	110
Cuadro 33.	Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de <i>F. oxysporum</i> empleando 7 concentraciones diferentes durante un período de 360 horas.	115

Cuadro 34.	Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de <i>P. olsonii</i> empleando 7 concentraciones diferentes durante un período de 360 horas.	120
Cuadro 35.	Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de <i>P. oxalicum</i> empleando 7 concentraciones diferentes durante un período de 360 horas.	124
Cuadro 36.	Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de <i>P. funiculosum</i> empleando 7 concentraciones diferentes durante un período de 360 horas.	127
Cuadro 37.	Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de <i>P. janthinelum</i> empleando 7 concentraciones diferentes durante un período de 360 horas.	130

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura química de algunos aceites esenciales.	10
Figura 2.	Cebolla (<i>A. cepa</i>).	16
Figura 3.	Ajo (<i>A. sativum</i>).	19
Figura 4.	Anís (<i>P. anisum</i>).	22
Figura 5.	Cilantro (<i>C. sativum</i>).	23
Figura 6.	Menta (<i>Mentha piperita</i>).	26
Figura 7.	Orégano (<i>L. graveolens</i>).	28
Figura 8.	Tomillo (<i>T. vulgaris</i>).	31
Figura 9.	Canela (<i>C. verum</i>).	33
Figura 10.	Clavo (<i>S. aromaticum</i>).	36
Figura 11.	Consumo de maíz a nivel mundial.	37
Figura 12.	Maíz (<i>Zea Mays</i> L.)	38
Figura 13.	Nuez pecanera (<i>Carya illioinensis</i> K.)	45
Figura 14.	Estructuras morfológicas de <i>Fusarium</i>	52
Figura 15.	Aspecto de penicilos	57
Figura 16.	Estructura morfológica de <i>Penicillium</i> .	58
Figura 17.	Distribución de cepas de <i>Penicillium</i> en cajas Petri.	71
Figura 18.	Frecuencia relativa de la microbiota presente en 24 muestras de maíz en PDA.	75
Figura 19.	Frecuencia relativa de la microbiota presente en 24 muestras de maíz en MSA.	76
Figura 20.	Frecuencia relativa de la microbiota presente en nuez pecanera en PDA.	93
Figura 21.	Frecuencia relativa de la microbiota presente en nuez pecanera en MSA.	94

RESUMEN

Ante la importancia del manejo de los cultivos agrícolas, que son la base para la alimentación humana y animal, se consideró importante realizar la búsqueda de productos naturales como los aceites esenciales y determinar su efecto antifúngico como una alternativa para reducir el deterioro de los granos utilizados como materia prima en la elaboración de diversos alimentos y bebidas; así como su posible uso como conservadores y/o aditivos.

El objetivo principal de este estudio fue el de evaluar la actividad antifúngica de nueve aceites esenciales grado alimenticio (ajo, anís, canela, cebolla, cilantro, clavo, menta, orégano y tomillo) contra las especies del género *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. moniliforme* y *F. oxysporum*) y *Penicillium* (*P. funiculosum*, *P. janthinellum*, *P. olsonii* y *P. oxalicum*) agentes causales de pudriciones de granos, deterioro y reducción de su calidad culinaria, industrial y sanitaria.

El estudio se realizó en la Unidad de Investigación de Granos y Semillas (UNIGRAS) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Los nueve aceites esenciales se emplearon en siete diferentes concentraciones: 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.25, 0.35, 0.45%. Las pruebas realizadas fueron *in vitro*, se hicieron tres repeticiones por cada tratamiento y un testigo sin tratamiento para cada una de las especies en estudio del género *Fusarium* y *Penicillium*, se sometieron a incubación por 15 días midiendo el crecimiento del diámetro de las colonias cada 72 horas y determinando así el efecto de inhibición de los aceites esenciales.

Los resultados obtenidos indicaron que el aceite de canela en las dosis mínimas probadas de 0.05 y 0.025% fue el que presentó el mejor efecto antifúngico sobre el crecimiento micelial de *F. moniliforme*, *F. graminearum* y *F. oxysporum*. En la dosis de 0.25% los aceites esenciales que tuvieron mayor efecto antifúngico sobre *F. graminearum* y *F. oxysporum* fueron los aceites de ajo y cebolla, a esta misma dosis para *F. moniliforme*, los aceites

que presentaron un mejor efecto antifúngico fueron la cebolla y el cilantro. El aceite esencial de menta fue el que mostró mayor efecto de inhibición sobre *F. moniliforme* al ser empleado en una dosis de 0.35%. Para la dosis máxima (0.45%) utilizada, los aceites de cilantro y menta presentaron un mayor efecto de inhibición sobre *F. graminearum* y *F. oxysporum*. Sin embargo, el aceite esencial de anís fue el que presentó la menor actividad antifúngica sobre el desarrollo micelial de las tres especies de *Fusarium* probadas.

En las especies de *Penicillium* se observó que en, *P. olsonii* y *P. oxalicum*, el aceite esencial de canela a una dosis mínima probada de 0.05%, mostró la mayor actividad antifúngica, mientras que para *P. funiculosum*, el aceite de clavo fue el que presentó el mejor efecto inhibitorio en esta misma dosis. En cuanto a los que tuvieron mayor efecto antifúngico empleando una dosis de 0.15% fueron los aceites de ajo y cebolla, para *P. funiculosum* y *P. janthinellum*; para la especie de *P. olsonii* fueron los aceites esenciales de ajo, clavo y orégano los que mostraron mayor efecto inhibitorio. Empleando una dosis de 0.25%, el aceite esencial de cebolla mostró un efecto antifúngico sobre *P. olsonii*, a esta misma dosis el ajo y orégano presentaron inhibición sobre *P. oxalicum*. El aceite esencial de cilantro a una dosis de 0.35% mostró un efecto inhibitorio sobre las cuatro especies estudiadas. Al emplear la dosis máxima probada de 0.45%, el aceite esencial de menta fue el que presentó un efecto antifúngico solo para *P. oxalicum* y *P. janthinellum*. El aceite esencial de anís de la misma manera que para *Fusarium* fue el único que no mostró efecto de inhibición total para ninguna de las especies de *Penicillium*.

I.INTRODUCCIÓN

Los consumidores actuales demandan cada vez más, alimentos sin sustancias conservantes o antimicrobianas sintetizadas químicamente y asocian alimentos sanos y seguros con alimentos frescos o mínimamente procesados. Esto ha llevado a la búsqueda de nuevas formas de preservación y al análisis de sus efectos sobre la estabilidad microbiológica de los alimentos (Buchanan y Phillips, 1990; Leistner 1992).

Ohlsson (1994) señala que los hábitos alimenticios de los consumidores de esta década están cambiando e identifica aspectos como dieta y salud, conveniencia, seguridad e ingredientes naturales como nuevas tendencias en el mercado de alimentos procesados. En muchos países se está consolidando el desarrollo y consumo de alimentos más “naturales”, mínimamente procesado, libres de aditivos o al menos con cantidades reducidas de éstos (Giese, 1994), por lo que existe un peligro potencial en la seguridad de los alimentos al reducir parte de los factores utilizados habitualmente para su preservación (Russel y Gould, 1991).

Giese (1994) y Davidson (1996) mencionan que la seguridad de los alimentos mejora significativamente con la incorporación de compuestos antimicrobianos, ya que estas sustancias se añaden a los alimentos para prevenir la descomposición de los mismos, por la actividad metabólica microbiana. Davidson (1996) define a los antimicrobianos como compuestos químicos presentes o añadidos en los alimentos, que retardan el crecimiento microbiano o inactivan a los microorganismos y por lo tanto, detienen el deterioro de la calidad y brindan seguridad al alimento en el cual se encuentran. El aspecto más importante de la pérdida de la calidad de los alimentos es el asociado con el deterioro microbiano y en particular con la presencia y/o desarrollo de microorganismos patógenos.

Esto ha llevado a investigar el uso y modo de acción de conservadores disponibles a fin de emplearlos de manera eficiente y a estudiar su aplicación al combinarlos con otras formas tradicionales y novedosas de preservación.

Los principales antimicrobianos utilizados en alimentos actúan principalmente inhibiendo y/o disminuyendo el crecimiento de los microorganismos, aunque algunos pueden también desactivarlos (Russell y Gould, 1991; Gould, 1996).

Las sustancias empleadas como conservadores se usan esencialmente para prevenir el deterioro de los alimentos durante su almacenamiento y distribución, asegurando de esta manera, la inocuidad del producto durante su vida de anaquel. Por lo tanto, el principal objetivo de ataque de estas sustancias serán aquellos microorganismos que puedan desarrollarse y deteriorar los alimentos. Además, dichas sustancias, se convertirían en un impedimento para el crecimiento de los microorganismos patógenos y productores de toxinas (Russell y Gould, 1991; Davidson, 1996).

La búsqueda de nuevos compuestos químicos que puedan ayudar a la conservación de alimentos se ha visto restringida por ciertos aspectos, principalmente económicos. En estos términos, desarrollar un nuevo compuesto y lograr que éste sea aprobado tiene un costo significativamente elevado, sin contar además, el tiempo considerablemente extenso que demanda el proceso de aprobación. Para asegurar que el aditivo desarrollado no tiene ningún efecto negativo sobre la salud, se deben realizar una serie de pruebas que incluyen: genotoxicidad, fertilidad, teratogenicidad, toxicidad subcrónica, y toxicidad crónica, incluyendo carcinogénesis (Lück y Jager 1997).

Estos obstáculos han conducido a la búsqueda de nuevos conservadores por otras vías. Una de las alternativas, es examinar compuestos que en la actualidad son utilizados en la industria de alimentos con distintos

propósitos, los cuales poseen comprobado potencial como antimicrobianos, están aprobados y son seguros en los niveles utilizados.

Dentro de estos compuestos se encuentran los llamados antimicrobianos naturales o “productos naturales” presentes en plantas (Nychas, 1995, Davidson, 1996); siendo los aceites esenciales y extractos vegetales de hierbas y especias una alternativa de importantes alcances, su reconocido principio aromático y su sabor de extractos vegetales han motivado el uso de varios de ellos, principalmente como agentes saborizantes o sazonadores de alimentos y bebidas (Bosques-Molina *et al.*, 2009).

II. ANTECEDENTES

2.1 ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales (AEs) son los aditivos naturales que más interés han generado en los últimos años en la industria de los alimentos ya que ofrecen una alternativa antimicrobiana y antioxidante que puede garantizar la seguridad e inocuidad de los alimentos en donde se adicionen sin riesgo de contaminar el entorno. Los estudios *in vitro* e *in vivo* reportados en frutas, hortalizas, productos cárnicos y lácteos indican que se requieren muy bajas concentraciones para lograr un efecto bioconservador (Bosquez-Molina *et al.*, 2009).

Los aceites esenciales (AEs) son mezclas de lípidos o grasas de bajo peso molecular muy hidrofóbicas, con excepción de los nitrogenados y/o azufrados; generalmente son menos densas que el agua, y confieren el sabor y aroma característico de la fuente vegetal o cultivo de donde provienen. Normalmente se extraen de diversas partes de las plantas (flores, frutas, hojas, raíces, bulbos, semillas, cortezas, hierbas y madera). En condiciones ambientales, son líquidos menos densos que el agua, pero más viscosos que ella, no solidifican a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Son poco solubles en etanol; son muy solubles en cloroformo y en aceites fijos o no volátiles como el aceite de oliva, e insolubles en agua (Günther, 1948). De acuerdo con Reineccius (1994) se pueden clasificar químicamente en cuatro grupos: 1) Los terpenos o hidratos de carbono de fórmula general $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$ como el limoneno; 2) Derivados oxigenados de los terpenos como el citral; 3) Compuestos aromáticos que contienen una estructura benzoica como el eugenol; 4) y compuestos que contienen azufre y/o nitrógeno como los isotiocianatos y sólo azufre como el dialil disulfuro.

2.1.1 Composición Química

Los principales componentes de los AEs pueden constituir hasta el 85% del aceite y el resto de los compuestos se encuentra en pequeñas cantidades o trazas (Senatore, 1996). Existen evidencias de que los componentes menores desempeñan un papel relevante en la función antimicrobiana, probablemente generando un efecto sinérgico con los otros constituyentes de las mezclas (Delaquis *et al.*, 2002).

Además de las cuatro familias principales de compuestos químicos mencionadas, las frutas y hortalizas contienen otros volátiles como son: alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres, lactonas y óxidos. Es precisamente debido a su compleja composición química, que los AEs son diversos en sus efectos, y en ello se fundamenta su acción antimicrobiana pues esto contribuye a reducir o inhibir la resistencia de los microorganismos; por consiguiente, su uso en la industria alimentaria ha generado mucho interés. Los AEs ricos en terpenos y compuestos fenólicos poseen alta actividad antimicrobiana; algunas hierbas o especias con estas propiedades incluyen a la pimienta, la albahaca, el laurel, el clavo, la canela, la cúrcuma, el eucalipto, el extracto de semilla de toronja, el orégano, la páprika, el rábano, el romero, la salvia, el tomillo, la valeriana, el estragón, entre otras más (Draughon, 2004).

La actividad antimicrobiana del clavo, la pimienta y la canela se atribuye al eugenol (2-metoxi-4 alil fenol) y al aldehído cinámico que son sus principales constituyentes volátiles. El tomillo y el orégano que se utilizan en la industria alimenticia como sazonadores y bioconservadores culinarios, contienen AEs que se consideran con una alta actividad inhibitoria. Los terpenos carvacrol, *p*-cimeno y timol son los principales componentes volátiles de estas especias, siendo el timol el que se encuentra en mayor proporción (en el orégano hasta en un 50% y en el tomillo hay 43% de timol y 36% de *p*-cimeno) (Conner, 1993). La actividad antimicrobiana de los aceites y oleorresinas de tomillo y

orégano es amplia contra bacterias, hongos y levaduras. El aceite esencial del flavedo "o piel" del limón (*Citrus aurantifolia Swingle*) contiene monoterpenos, sesquiterpenos, alcoholes, ésteres y aldehídos, y se le atribuyen propiedades antisépticas, antivirales y bactericidas (Gvdbiotech, 2009). En el AE de romero (*Rosmarinus officinalis*) las propiedades antimicrobianas se atribuyen a sus componentes alcanfor (21%), eucaliptol 1,8-cineol (17.6%) y verberona (>12%) (Mulas *et al.*, 2004).

2.1.2 Compuestos con actividad antimicrobiana

Dentro de los productos naturales existe un gran interés en su uso como antimicrobianos y su posible substitución con los tradicionalmente utilizados (Nychas, 1995) ya que existen varios reportes en la bibliografía acerca de la actividad antimicrobiana de especies, hierbas y plantas o sus extractos (Hitokoto *et al.*, 1980; Shelef, 1983; Jay y Rivers, 1984; Karapinar, 1985; Thompson, 1986; Graham y Graham, 1987; Beuchat y Golden, 1989).

Si bien se ha estimado que las plantas sintetizan cientos de miles de diferentes compuestos metabolitos secundarios y que todos los días son reportados otros nuevos, se los ha agrupado en cinco clases de acuerdo a la estructura química o según la forma en que la planta los produce.

En el Cuadro 1 se pueden observar algunos ejemplos de compuestos con actividad antimicrobiana producidos por plantas y descritos por Duke (1985).

Cuadro 1. Principales tipos de compuestos antimicrobianos provenientes de plantas.

Nombre vulgar	Nombre científico	Compuesto	Clase	Actividad	Toxicidad relativa *
Aceite de oliva	<i>Olea europea</i>	Hexanal	Aldehído	General	No se conoce
Ajo	<i>Allium sativum</i>	Allicina , ajoeno	Sulfóxido	General	No se conoce
Cebolla	<i>Allium cepa</i>	Allicina	Sulfoxido	Bacteria, <i>Candida</i>	No se conoce
Chamomilla	<i>Matricaria chamomilla</i>	Ácido antémico	Ácido fenólico	<i>S. aureus</i> Helmintos	2.3
Clavo	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol	Terpeno	General	1.7
Eucaliptus	<i>Eucalyptus globulus</i>	Taninos	Polifenoles	Bacterias <i>E. coli</i>	1.5
Ginseng	<i>Panax notoginseng</i>		Saponinas	<i>Staphylococcus,</i> <i>Trichophyton</i>	2.7
Henna	<i>Lawsonia inermes</i>	Ácido gálico	Ácido fenólico	<i>S. aureus</i>	1.5
Quinina	<i>Cinchona</i> sp.	Quinina	Alkaloide	<i>Plasmodium</i> spp.	2.0
Te verde	<i>Camellia sinensis</i>	Catequinas	Flavonoides	General	2.0
Tomillos	<i>Thymus vulgaris</i>	Timol, taninos	Terpenos, polifenoles	Bacterias, hongos	2.5
Valeriana	<i>Valeriana officinalis</i>	Aceite esencial	Terpenos	General	2.7

* 0 altamente seguro, 3 altamente tóxico

Fuente: Cowan, 1999.

2.1.3 Estructura Química

En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos policíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados; Ej., alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, etc., sustancias azufradas y nitrogenadas (Fig.1). Los compuestos menos frecuentes derivan biológicamente del ácido mevalónico; se les cataloga como terpenos: monoterpenos (C₁₀) y sesquiterpenos (C₁₅) (Judd *et al.*, 2002).

2.1.4 Extracción de aceites esenciales

Para obtener un aceite esencial de calidad hay que tomar en cuenta los diferentes factores que pueden alterar su composición. Son 5 los aspectos fundamentales que determinan la composición química de los aceites esenciales: 1. variedad genética y el estado de desarrollo de la planta o sus órganos, 2. factores geográficos y ambientales como la temperatura, luminosidad, humedad relativa, composición del suelo, 3. prácticas culturales 4. corte y operaciones postcosecha y 5. el método de extracción; este último, es el más importante de todos los puntos mencionados.

Los métodos usados para la extracción de las sustancias aromáticas contenidos en las "mezclas" de los aceites esenciales incluyen: 1. El enfleurage, 2. La compresión, 3. La extracción por solventes 4. La extracción con fluidos supercríticos 5. La extracción con etanol y 6. La destilación, que es el más usado de todos (Judd, *et al.*, 2002).

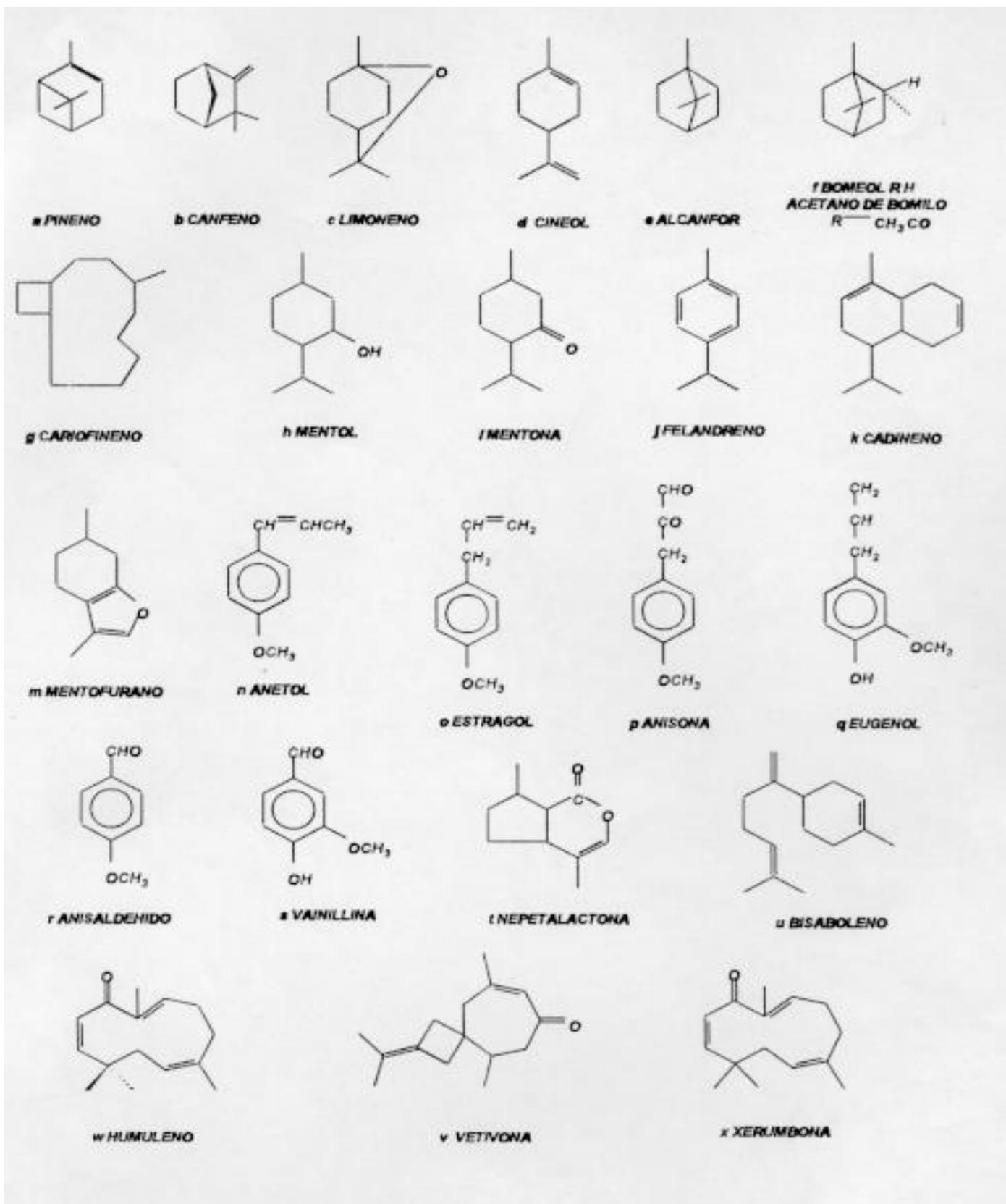


Figura 1. Estructura química de algunos aceites esenciales (Judd, *et al.*, 2002).

1. **Enfleurage:** Proceso en dos pasos durante el cual los aceites son absorbidos en una cera o grasa y posteriormente extraídos en alcohol. Se usa para obtener aceites muy delicados, principalmente de flores. No es común el uso de esta técnica a nivel industrial por los costos económicos y porque actualmente se usan métodos más eficientes.
2. **Compresión o prensado:** Es el tradicional para la obtención de los aceites de la piel de los cítricos. Consiste en la compresión o prensado hasta obtener una mezcla de grasas, ceras y los compuestos volátiles. Son prensados mecánicamente o en frío.
3. **Extracción por solventes o maceración:** La maceración con solventes comúnmente se utiliza en la industria perfumera. Los materiales son sumergidos y agitados en un solvente que usualmente es el hexano y/o dimetil éter. Se obtienen además de los AEs otras sustancias hidrofóbicas o solubles en grasas como ceras, pigmentos y resinas; posteriormente, por destilación en vacío, se eliminan los solventes.
4. **Extracción con fluidos supercríticos:** Esta técnica usa CO₂ líquido como solvente de extracción. Cuando el CO₂ se somete a altas presiones (100 atmósferas o más) a temperatura ambiente, cambia su estado gaseoso a líquido y actúa como solvente. Luego, cuando se reduce la presión, el CO₂ cambia de estado de líquido a gas separando el CO₂ de los aceites esenciales y las oleorresinas.
5. **Extracción con etanol:** Se usa para la extracción de los volátiles de material seco. Son llamados tinturas. Una vez hecha la tintura, el alcohol se elimina, usualmente por destilación a baja presión.
6. **Destilación:** Es la técnica más común en la obtención de los compuestos aromáticos contenidos en los aceites esenciales. El material vegetal molido, usualmente en agua, se calienta en un alambique hasta la ebullición para condensar los vapores.

(Judd, *et al.*, 2002)

2.1.5 Usos de los aceites esenciales en alimentos

En la industria alimentaria, los conservadores continúan siendo una de las clases más importantes dentro de los aditivos empleados en los diversos grupos de alimentos. Actualmente esta industria enfrenta una creciente exigencia, por parte del consumidor, de alimentos de calidad con mayor capacidad de conservación y sanidad por lo que se hace cada vez más necesaria la eliminación de aditivos sintéticos y su sustitución por productos naturales con menor impacto contra el ambiente, siendo los aceites esenciales y extractos vegetales de hierbas y especias una alternativa de importantes alcances.

El reconocido principio aromático y de sabor de extractos vegetales de diferentes tipos de plantas ha motivado el uso de varios de ellos, principalmente como agentes saborizantes o sazonadores de alimentos y bebidas. Sin embargo, son pocos los alimentos que a nivel comercial contienen aceites esenciales como bioconservadores. Algunos estudios reportan lo siguiente:

➤ **Carne y Productos cárnicos**

Una salsa estilo italiana, conteniendo 0.3% de aceite esencial de orégano y 0.3% de aceite esencial de tomillo redujo significativamente cuentas aeróbicas en placa de *Escherichia coli* O157:H7 en filetes crudos de pechuga de pollo. Esta combinación de AEs de orégano y tomillo fue altamente letal para *Salmonella*, *Typhimurium* y *Campylobacter jejuni* (Draughon, 2004). El aceite esencial de ajo y cebolla además de tener efecto antimicrobiano contra *Pseudomonas fragi* y *Lactobacillus*, mejoró los atributos sensoriales en chorizo (Morales-López, 1999). Salsas para marinar con 6% de AE de hoja de pimiento inhiben *Acrobacter butzleri* en chuletas de cerdo. Purés de ciruela deshidratada al 3% reducen *E. coli* y *Salmonella* en carne molida.

El ajo fresco picado añadido en una concentración del 1% en peso en mayonesa reduce cuentas de *Salmonella enteritidis* (Leuschner y Zampanini, 2002). En general, para los productos cárnicos los AEs de orégano, tomillo, clavo y cilantro son los más efectivos en concentraciones entre 5-20µl/g. Se ha observado que entre mayor sea el contenido de grasa en el producto, se reduce notablemente el efecto de los AEs.

➤ Pescado

La mostaza ha resultado altamente efectiva para controlar *E. coli* en salsa de pescado almacenada a 25 °C por 28 días (Al-Jedah *et al.*, 2000). El AE de orégano en una concentración tan baja como 0.5µl/g es efectivo para controlar *Photobacterium phosphoreum* en filetes de bacalao. Recubrir la superficie de pescado entero con AE o incorporar el aceite en un recubrimiento para aplicarlo en camarones resulta efectivo para inhibir la flora natural deteriorativa de estos productos (Harpaz *et al.*, 2003). El extracto etanólico del AE de comino (*Cuminum cyminum* L.) en salsa teriyaki para marinar trucha cruda reduce el número de colonias de hongos, levaduras y de coliformes, y las colonias de *L. monocytogenes* disminuyen a niveles no detectables aun después de 9 días de almacenamiento a 4 ó 0 °C.

➤ Productos lácteos

Los escasos reportes en estos productos, mencionan el control del crecimiento de *S. enteritidis* y de las especies iniciadoras de cultivo logrado con AE de menta con 0.05-20µl/g en yogurt de bajo contenido en grasa. Los aceites esenciales de canela, cardamomo y clavo han resultado ser más eficaces (Bayoumi, 1992).

➤ Panificación

La inhibición del crecimiento fúngico en pan de arroz se ha logrado con alil-isotiocianatos (AITC) en empaques activos, siendo el umbral sensorial

ligeramente mayor que la concentración mínima inhibitoria, pero este umbral es mucho más bajo para los panes que se utilizan para los hot dogs. Se ha observado que los AEs de tomillo, romero, clavo y canela en pan de arroz inhiben *Eurotium spp.*, *Aspergillus, spp.* y *Penicillium spp.*, pero su eficacia depende del pH y la actividad de agua (a_w) (Guynot *et al.*, 2005).

Los AEs de canela, clavo y cardamomo, inhiben el crecimiento de microorganismos en galletas, sin embargo el cardamomo reduce los atributos sensoriales (Adel *et al.*, 2002).

➤ Frutas y hortalizas

Los AEs tienen gran potencial en la agricultura como bioplaguicidas, sin embargo es escasa su aplicación en los productos vegetales destinados al consumo humano. Los estudios realizados con AEs se han dirigido principalmente hacia el control de microorganismos fitopatógenos, tanto en pre como en postcosecha; así por ejemplo, contra *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* y *Colletotrichum gloeosporioides* se han evaluado extractos vegetales y AEs como el de tomillo, hisopo, ajo e isotiocianatos (Wilson *et al.*, 1997; Tiznado-Hernández y Troncoso-Rojas, 2006). En concentraciones de 0.1-10 $\mu\text{l/g}$ han resultado eficaces tanto contra la flora natural como contra los microorganismos patógenos que pueden ser propagados por las frutas y hortalizas (Singh *et al.*, 2002). El carvacol y el cinamaldehído aplicados por inmersión en concentraciones de 0.15 μl reducen la flora natural en kiwi y en mayor concentración para el melón.

Los AEs de cítricos usualmente se usan como saborizantes en bebidas de cola y *ginger ale*, así como en perfumería. Los terpenos oxidados contenidos en el AE de cítricos poseen una alta capacidad antifúngica; por ejemplo, el citral es eficaz para inhibir *Penicillium digitatum* y *P. italicum* (Wuryatmo *et al.*, 2003).

En los productos vegetales precortados los consumidores son aún más exigentes ya que no aceptan la aplicación de químicos sintéticos como conservadores. En estos casos, los AEs representan una alternativa de gran alcance, pero aún hay que investigar el tipo y niveles adecuados a utilizar para no alterar los delicados atributos de calidad y propiedades sensoriales (Lanciotti *et al.*, 2004; Bosquez-Molina *et al.*, 2009). En ciertas hortalizas los AEs funcionan como aderezo en ensaladas y al mismo tiempo permiten su conservación, tal es el caso del aceite esencial de orégano que inhibe *Escherichia coli* O157:H7 en ensaladas de berenjena utilizando concentraciones de 7-21µl/g.

De acuerdo con lo anterior, cualquier compuesto que se aplique como bioconservador en los productos de origen vegetal de consumo en fresco, deberá reunir los siguientes requisitos: capacidad antimicrobiana eficaz en concentraciones que no sean tóxicas para el consumidor y que no alteren negativamente la frescura, calidad nutricional y sensorial.

2.1.6 Aceites Esenciales de Grado Alimenticio

2.1.6.1 CEBOLLA (*Allium cepa* L.)

Características

La cebolla (*Allium cepa* L.) (Fig. 2) pertenece a la familia de las liliáceas, que agrupa a más de 3,000 especies repartidas por casi todo el mundo; es una planta vivaz, bulbosa, que puede alcanzar hasta cuatro metros de altura. El bulbo es grande, redondeado o deprimido, según las distintas variedades, y aparece cubierto de binzas que pueden ser blancas o de color vino tinto. Las hojas son redondeadas, de un tono verde-azulado, y las flores se disponen en un ramillete globoso, en forma de umbela. Los frutos de la cebolla son diminutas cápsulas llenas de semillas finas y negras. Proviene de Asia, supuestamente de la zona comprendida entre Palestina e India (USDA, 2006).

Clasificación científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Alliaceae

Género: *Allium*

Especie: *cepa*

Nombre científico: *Allium cepa*



Fig.2 Cebolla (*A. cepa*).

Composición química

En el Cuadro 2 se muestra la composición química de la cebolla, en donde se observa su alto contenido de carbohidratos y fibra.

Cuadro 2. Composición química por cada 100g de cebolla.

Componentes	Contenido
Energía	43 kcal
Agua	89 g
Carbohidratos	7.1 g
Lípidos	0.2 g
Proteínas	1.3 g
Fibras	2.1 g

Fuente: Aprifel, 2009.

Componentes activos

- Aminoácidos: ácido glutamínico, argenina, lisina, glicina, etc.
- Minerales: Principalmente: potasio, fósforo, calcio, magnesio, sodio, azufre y en cantidades menores: hierro, manganeso, zinc, cobre y selenio.

- Vitaminas: vitamina C, ácido fólico, vitamina E.
- Aceite esencial con muchos componentes sulfurados: alicina, disulfuro de alilpropilo, disulfuro de dialilo, sulfuro de dialilo, dimetilo con trisulfuros, metilaliina, cicloaliina, etc.
- Ácido tiopropiónico.
- Quercetina: tratamiento de la debilidad capilar.
- Aliina, en menor cantidad que el ajo (Durán, 2006).

Potencial antimicrobiano

Investigaciones recientes han demostrado que los tiosulfatos, se descomponen y/o transforman en otros subproductos, como son los tiosulfonatos, sulfuros, disulfuros, sulfóxidos, etc., que a su vez poseen variedad de efectos biológicos al igual que los tiosulfatos, como antitrombóticos (Block *et al.*, 1986), antimicrobianos (Kyung y Lee, 2001), antioxidantes (Block, 1985), insecticidas (Auger *et al.*, 2002), etc. No obstante los trabajos e investigaciones acerca de la aplicación en alimentos de estos compuestos como conservadores es muy escasa, y no existe referencia alguna de su uso como tratamiento antimicrobiano para alimentos susceptibles a hongos y bacterias, como son los quesos, embutidos, alimentos frescos, alimentos precocinados, alimentos listos para servir, etc. Asimismo, los trabajos realizados en relación a su aplicación como antimicrobianos en tratamientos agrícolas (en cosecha o postcosecha) son muy escasos en algunos casos. En el caso de los tiosulfatos naturales, o de alguno de sus productos de descomposición, existen pocas referencias bibliográficas para su posible uso en agricultura. Se ha encontrado la actividad antimicrobiana de los tiosulfonatos provenientes de la descomposición de los tiosulfatos, en la conservación de pinturas, barnices y aguas de torres de refrigeración (Small *et al.*, 1949, Baerlocher *et al.*, 2000).

En pruebas de investigación sobre la actividad antimicrobiana del extracto de cebolla contra bacterias patógenas, se ha demostrado que la adición de

extracto de cebolla a cultivos bacterianos inhibe significativamente el crecimiento de organismos grampositivos, gramnegativos y levaduras (Didry *et al.*, 1987, Elnima *et al.*, 1983). El extracto de cebolla mostró ser activo también contra hongos como *Candida albicans* o *Aspergillus niger*.

Didry *et al* (1987) observó la actividad antimicrobiana del extracto de cebolla contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus bifidum*. Esto fue confirmado por Hughes y Lawson (1991); observando la actividad microbiana de la fracción polar del extracto contra *Escherichia coli*, *S. aureus* y *C. albicans* con valores entre 25 y 200 µg/ml. El extracto acuoso o jugo de cebolla inhibió *in vitro* el crecimiento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus marcescens*, *Streptococcus species*, *Listeria odontolyticus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Salmonella typhosa*. El extracto de cebolla en éter de petróleo inhibió *in vitro* el crecimiento de *Candida parapatrificum* y *S. aureus*. El aceite esencial tiene actividad contra una variedad de hongos incluyendo *A. niger*, *C. albicans*, *F. oxysporum*, *Sacharomyces cerevisiae* y *Geotrichum* (WHO, 1990).

2.1.6.2 AJO (*Allium sativum* L.)

Características

Es una planta perenne de la familia de la cebolla (Fig. 3). Las hojas son planas y delgadas, de hasta 30 cm de longitud. Las raíces alcanzan fácilmente profundidades de 50 cm o más. El bulbo, de piel blanca, forma una cabeza dividida en gajos comúnmente llamados dientes. Cada cabeza puede contener de 6 a 12 dientes, cada uno de los cuales se encuentra envuelto en una delgada película de color blanco o rojizo. Cada uno de los dientes puede dar origen a una nueva planta de ajo. Este brote comienza a aparecer luego de los tres meses de cosechado, dependiendo de la variedad y condiciones de conservación.

Las flores son blancas, y en algunas especies el tallo también produce pequeños bulbos o hijuelos. Una característica particular del bulbo es el

fuerte olor que emana al ser cortado. Esto se debe a dos sustancias altamente volátiles, denominadas aliina y disulfuro de alilo (Gernot, 2005).

Clasificación científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Alliaceae

Género: *Allium*

Especie: *sativum*

Nombre científico: *Allium sativum*



Fig. 3. Ajo (*A. sativum*).

Composición química

En el siguiente cuadro (Cuadro 3) se muestra la composición química del ajo por cada 100 gramos, en donde se observa que el componente mayoritario son los carbohidratos.

Cuadro 3. Composición química por cada 100 g de ajo crudo.

Componentes	Contenido
Carbohidratos	33.06 g
Azúcares	1.0 g
Fibra alimentaria	2.1 g
Grasas	0.5 g
Proteína	6.36 g

Fuente: USDA Nutrient database, 2006.

Componentes activos

- Aminoácidos: ácido glutamínico, argenina, ácido aspártico, leucina, lisina, valina, etc.
- Minerales: Principalmente: manganeso, calcio, potasio y fósforo y; en cantidades menores: magnesio, cobre, hierro, selenio, sodio y zinc.
- Vitaminas: Principalmente: vitamina B6 y vitamina C y; en cantidades menores: ácido fólico, pantoténico y niacina.
- Aceite esencial: disulfuro de alilo, trisulfuro de alilo, tetrasulfuro de alilo y alicina (que produce ajoeno) y quercetina
- Azúcares: fructosa y glucosa (Durán, 2006).

Potencial antimicrobiano

El ajo es potencialmente el alimento con potencial antimicrobiano más consumido. Las propiedades medicinales del ajo, han sido estudiadas desde hace ya varios siglos. Sin embargo, es hasta los años cuarentas, que aparece evidencia científica de sus propiedades antimicrobianas; Cavallito *et al.*, 1944, fueron los primeros en aislar el componente antimicrobiano del ajo a partir de bulbos frescos, utilizando destilación por arrastre con vapor. Identificaron al compuesto obtenido como alicina o ácido diatiltiosulfónico (Beuchat y Golden, 1989).

Este compuesto se define como un aceite altamente aromático, incoloro y el responsable del olor característico en el ajo y la cebolla. En concentraciones de 1: 85,000 en pruebas de laboratorio, la alicina se muestra como bactericida con un amplio espectro para microorganismos Gram positivos y Gram negativos.

El mecanismo de la actividad antimicrobiana del ajo, se basa en la inhibición de la actividad de las enzimas como: fosfatasa alcalina, invertasa, ureasa y papaína, así como de enzimas sulfhídricas. La alicina inhibe la actividad de las enzimas sulfhídricas debido a la presencia de los grupos

químicos S-O-S. La mayoría de estas enzimas son inhibidas a concentraciones 0.0005 molar de alicina. Esto incluye a ureasa, papaína, colina esterasa, hexosinasa, triosafosfatodeshidrogenasa, carboxilasas. Igualmente, muestra inhibición para enzimas no sulfihídricas como lactodeshidrogenasa, tirosinasa y fosfatasa alcalina.

Muchos de los trabajos realizados sobre la actividad antimicrobiana del ajo, hacen referencia a su acción sobre bacterias patógenas, mohos micotoxigénicos y microorganismos que causan deterioro. Organismos que tienen en común a las enzimas sulfihídricas (Davidson y Parrish, 1989).

2.1.6.3 ANÍS (*Pimpinella anisum* L.)

Características

Planta herbácea anual originaria del Asia suboccidental (Fig. 4) y la cuenca mediterránea oriental, forma matas de hasta 1 m de altura. Las hojas en la base son simples, de entre 2 a 5 cm de largo ligeramente lobuladas mientras que en la parte superior del tallo son pinnadas y más profundamente divididas. Las flores, de 3 mm, son blancas, pentapétalas y surgen en densas umbelas. El fruto es un esquizocarpio oblongo de 3 a 5 mm de largo con un fuerte sabor aromático.

Clasificación Científica

Reino: Plantae

División: Magnoliopsida

Orden: Apiales

Familia: Apiaceae

Subfamilia: Apioideae

Género: *Pimpinella*

Especie: *anisum*

Nombre científico: *Pimpinella anisum*



Fig.4. Anís (*P. anisum*).

Composición Química

En el Cuadro 4 se muestra la composición química del anís, en donde se observa que no contiene proteínas ni grasas y muestra un mínimo contenido de carbohidratos, asimismo destaca su alto contenido en agua y alcohol.

Cuadro 4. Composición química por cada 100g de anís.

Componente	Contenido
Energía	267 Kcal
Proteína	0 g
Carbohidratos	1 g
Grasa total	0 g
Alcohol	37.50 g
Agua	61.50 g

Fuente: USDA Nutrient database, 2006.

Componentes Activos

La destilación de las semillas libera un aceite volátil que se utiliza como infusión que sirve para trastornos digestivos. El elemento principal del aceite (más del 90%) es el anetol. También contiene chavicol metileno, aldehído

anísico, ácido anísico y un terpeno, flavonoides, cumarinas, y otros compuestos fenólicos (Muñoz, 2002).

2.1.6.4 CILANTRO (*Coriandrum sativum* L.)

Características

El cilantro, coriandro o culantro (*Coriandrum sativum* L.) (Fig. 5), es una hierba anual de la familia de las apiáceas de tallos rectos, hojas compuestas, flores blancas y frutos aromáticos, de uso común en la cocina mediterránea, india, latinoamericana, china y del sureste asiático. Todas las partes de la planta son comestibles, pero generalmente se usan las hojas frescas y las semillas secas. En algunos países se le conoce como perejil chino o japonés. Las semillas, redondas y de color beige se utilizan enteras o molidas. Ya en la antigüedad se usaba, como planta aromática y medicinal. Se adapta a cualquier tipo de terreno, basta que esté expuesto al sol (Salazar, 2008).

Clasificación científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Apiales

Familia: Apiaceae

Género: *Coriandrum*

Especie: *sativum*

Nombre científico: *Coriandrum sativum*



Fig. 5 Cilantro (*C. sativum*).

Composición química

La composición química del cilantro es abundante en agua con un 90%, el Cuadro 5 muestra su composición química por cada 100g.

Cuadro 5. Composición química por cada 100 g de cilantro.

Componente	Contenido
Agua	90%
Carbohidratos	5 g
Proteínas	2.40 g
Lípidos	0.50 g
Valor energético	28 cal.

Fuente: Infoagro, 2009.

Componentes activos

- Ácidos:
 - Linoleico: antiartrítico, hepatoprotector, anticancerígeno, hipocolesterolémico.
 - Oleico: anticancerígeno, hipocolesterolémico, antialopécico.
 - Palmítico: hipocolesterolémico, antioxidante, antialopécico.
 - Esteárico: hipocolesterolémico.
 - Ascórbico: antibacterial, antiulcérico, antiesclerótico, antihipertensivo, antiinflamatorio, antioxidante, antiescorbútico, hipocolesterolémico, antigripal, antitumoral.
- Aceite esencial, rico en:
 - Cineol: antibacterial, antirreumático, antiséptico, antiulcérico, colerético.
 - Borneol: antibacterial, antiinflamatorio, antiespasmódico, hepatoprotector.
 - Canfeno: antioxidante, expectorante.
 - Citronelol: antiséptico.
 - Coriandrol: anticonvulsionante.
 - Geraniol: anticancerígeno, expectorante, antiséptico, antimelanómico.

- Limoneno: antibacterial, anticancerígeno, antiespasmódico, expectorante.
- Linalol: anticancerígeno, antiespasmódico, antihistamínico, hipnótico.
- Alfa-pineno: antibacterial, antiinflamatorio, expectorante, anticancerígeno.
- Beta-pineno: antiinflamatorio, antiespasmódico.
- Beta-felandreno: fungicida

(Botanical, 2009).

Potencial antimicrobiano

Popularmente se utiliza como antihelmíntico, fungicida y como antiinflamatorio y analgésico por vía externa. El cilantro se ha usado como vermífugo, aunque no se ha podido demostrar tal propiedad. Se cree que las semillas del cilantro poseen propiedades para disminuir el colesterol en sangre.

En ciertos estudios, se ha visto que la salsa mexicana, la cual entre sus principales ingredientes tiene al cilantro, posee fuertes propiedades antibacteriales; se encontró la total inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, y *Staphylococcus aureus*. Dichas investigaciones arrojaron que los compuestos volátiles (2*E*)-hexenal y (3*E*)-hexenal pueden ser los principios activos antibacteriales (Kubo *et al.*, 2004). En el 2006, se publicaron investigaciones, en las cuales se determinó que sólo el cilantro fresco o su infusión acuosa tienen propiedades antibacteriales, ya que mediante la cocción pierde todas sus propiedades (Sabahat y Perween, 2007).

2.1.6.5 MENTA (*Mentha piperita* L.)

Características

La menta (Fig. 6) es un género de hierbas comestibles, es una planta que se parece mucho a la hierbabuena. Es una especie herbácea, vivaz, con tallos erectos, piloso y de color rojizo, cuadrangulares muy ramificados, que puede alcanzar una altura de 80 cm. Hojas ovadas, pecioladas y dentadas con bordes aserrados, color verde oscuro en la cara superior y más claro en la inferior. Flores agrupadas en tirso densos, color púrpura. Los estolones son de sección cuadrangular y crecen bajo y sobre la superficie del suelo en todas direcciones. Va bien en casi todos los climas, resistiendo hasta -15 °C, crece estupendamente en suelos ricos en materia orgánica, algo húmedos y en semisombra (con más luz da más esencia), lo más importante es que cuente con bastante agua. Es de muy fácil hibridación con otras especies de menta (Lamaison, 1987).

Clasificación Científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Mentha*

Especie: *piperita*

Nombre científico: *Mentha piperita*



Fig.6 Menta (*M. piperita*).

Composición Química

En el Cuadro 6 se observa la composición química de la menta donde se muestra su alto contenido en carbohidratos y su bajo contenido en grasa.

Cuadro 6. Composición química por cada 100g de menta fresca.

Componente	Contenido
Energía	67 Kcal
Proteína	3.75 g
Carbohidratos	6.89 g
Grasa total	0.94 g
Agua	80.40 g

Fuente: USDA Nutrient database, 2006.

Componentes Activos

La hoja de la menta contiene triterpenos, carotenoides y flavonoides. Algunos compuestos son flavonas altamente oxigenadas. Dentro de su composición química destaca la riqueza de su aceite esencial, siendo el componente mayoritario el mentol (30 a 40%) acompañado de mentona (15 a 25%) y de acetato de mentilo; también se encuentran la isomentona, neomentol, cineol, mentofurano, germacreno D y otros hidrocarburos (Gilly *et al.*, 1986). Los componentes activos en las hojas de la menta son el mentol, y la carminativa (Jullien *et al.*, 1984).

Potencial Antimicrobiano

Se han realizado estudios *in vitro* de *Rhizopus stolonifer*, causante de las pudriciones en los frutos, y se han obtenido resultados interesantes con vapores de aceites esenciales de menta (*Mentha piperita*) y con albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y sus principales constituyentes (mentol y linalol), los cuales inhibieron el crecimiento de *R. stolonifer* y de otros hongos fitopatógenos evaluados (Edris y Farrad, 2003).

2.1.6.6 ORÉGANO (*Origamun vulgare* L.)

Características

La planta de orégano (Fig. 7) forma un pequeño arbusto achaparrado de unos 45 cm de alto, los tallos, que a menudo adquieren una tonalidad rojiza, se ramifican en la parte superior y tienden a deshojarse en las partes más inferiores. Las hojas surgen opuestas, ovales y anchas de entre 2 a 5 cm, con bordes enteros o ligeramente dentados y con vellosidad en el envés. Las diminutas flores, de color blanco o rosa, que nacen en apretadas inflorescencias terminales muy ramificadas están protegidas por diminutas hojillas de color rojizo.

Toda la planta posee unas pequeñas glándulas donde está contenida la esencia aromática, de color amarillo limón, compuesta por dos tipos de fenoles, como mayoritario el carvacrol y en menor proporción el timol.

Clasificación Científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliópsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Origanum*

Especie: *vulgare*

Nombre científico: *Origamun vulgare*



Fig. 7. Orégano (*O. vulgare*).

Composición Química

En el Cuadro 7 se muestra la composición química de la planta de orégano, teniendo como componente mayoritario el agua con un 12 %.

Cuadro 7. Composición Química por 100 g de orégano seco.

Componente	(%)
Energía	308 Kcal
Proteína	11 g
Carbohidratos	21.63 g
Fibra	42.80 g
Grasas	10.25 g
Agua	7.15g

Fuente: Castillo, 1998.

Componentes Activos

- Ácidos: Rosmarínico (planta y hojas) palmítico, esteárico, oleico, ursólico, cafeico, capricho (planta) y carioptosidico.
- Aceite esencial: rico en timol, cineol, carvacrol, borneol, beta-bisolobeno, limoneno, alfa pineno, beta pineno, mirceno, camfeno, alfa terpineno (Moreno, 1988).

Potencial Antimicrobiano

Los fenoles carvacrol y timol poseen niveles altos de actividad contra microorganismos gram negativos, siendo el timol el más activo (Moreno, 1989).

Existen múltiples estudios sobre la actividad antimicrobiana del extracto de orégano. Se han encontrado que los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presenta actividad contra bacterias gram negativas como *Salmonella typhymorium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersenia*

enterocolítica y *Enterobacter cloacae*; y las gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis* (Elgayyar *et al.*, 2001 y Aligiannis *et al.*, 2001).

Tiene además capacidad antifungicada contra *Candida albicans*, *C. tropicales*, *Candida glabrata*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula* (Sivropoulou *et al.*, 1996). Se ha evaluado la actividad antimicrobiana de los compuestos aislados, así como del aceite esencial. Los fenoles carvacol y timol poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismos gram negativos, siendo el timol el más activo (Aligiannis *et al.*, 2001 y Sivropoulou *et al.*, 1996).

2.1.6.7 TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.)

Características

Es un pequeño arbusto (Fig. 8) con un penetrante olor aromático, que alcanza los 40cm de altura de aspecto grisáceo. Tiene los tallos erguidos, cuadrangulares, leñosos y muy ramificados. Las hojas son pequeñas de 3-8 mm, son lineares, oblongas, dentadas, opuestas, tomentosas, sin cilios, con el pecíolo o sus márgenes revueltos hacia abajo y blanquecinas por su envés. Las flores son pequeñas de color rosa y están agrupadas en la extremidad de las ramas, formando una especie de capítulo terminal, a veces con inflorescencia interrumpida y producidas en corimbos. Las brácteas son verde-grisáceas, el cáliz, algo giboso, con pelos duros, con tres dientes en el labio superior, cortos, casi iguales y dos dientes en el labio inferior, muy agudos, más largos, con pelos en sus bordes y de color rojizo. La corola es un poco más larga que el cáliz, con el labio superior erguido y el inferior trilobulado y de color blanquecino o rosado. Los 4 estambres sobresalen de la corola y el fruto es lampiño, de color marrón. Florece en primavera a partir de marzo (López, 2006).

Clasificación Científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Thymus*

Especie: *vulgaris*

Nombren científico: *Thymus vulgaris*



Fig.8 Tomillo (*T. vulgaris*).

Composición Química

La composición química de las ramas contiene flavonoides, derivados del apigenol y del luteolol; ácidos fenolitos, caféico, rosmarínico, clorogénico; ácidos triterpénicos, ursólico y oleanoico; saponinas y un principio amargo (serpilina) contiene también elementos minerales (Fonnegra, 2006).

El aceite esencial está constituido principalmente por fenoles monoterpénicos, como timol, carvacrol, p-cimeno, gammaterpineno, limoneno, borneol y linalol. No obstante, se ha de tener en cuenta que la composición del aceite esencial es variable según la época y lugar de la cosecha, además de la bien conocida existencia de diferentes quimiotipos, tanto de *T. vulgaris* como de *T. zygis* (Carretero, 2000).

Potencial Antimicrobiano

Dentro de los compuestos presentes en los extractos vegetales que poseen actividad antimicrobiana, se pueden mencionar el timol, el carvacrol o el eugenol; algunos autores como Conner en 1993, reportaron la alta actividad antimicrobiana de éstos compuestos en forma pura.

Con respecto al carvacrol, se ha demostrado que se encuentra presente en aceites esenciales de orégano (60% a 70% de carvacrol) y tomillo (45% de

cavacrol). La inhibición del crecimiento de muchos patógenos por el carvacrol, ha sido reportada en varios artículos, sin embargo no se ha definido el mecanismo de acción de éste. Usando como organismo modelo a *Bacillus cereus*, que es un esporoformador patógeno en alimentos, se ha demostrado que la exposición de las células vegetativas a concentraciones de carvacrol mayores a 1 ml, conduce a un incremento de la fase de latencia, una tasa baja de crecimiento y una densidad final de población baja. También se ha observado que a concentraciones por encima de 1ml, la viabilidad de *B. cereus* disminuye exponencialmente. Al mismo tiempo que hay un incremento en la permeabilidad de la membrana observándose la salida de protones e iones de potasio, conduciendo a disminución del gradiente de pH a través de la membrana citoplásmica, un colapso potencial de membrana e inhibición de la síntesis de ATP. Finalmente estos eventos, son seguidos por la muerte celular (Ultee *et al.*, 2002).

Por otra parte, el timol es un isómero del carvacrol que se ha visto implicado en la desintegración de la membrana citoplásmica en células de *E. Coli* y *Salmonella thyphimurium*. El timol y el cimol (precursor biosintético del timol) son ejemplos de preservativos naturales que has sido reportados por tener efectos inhibitorios sobre bacterias y hongos (Delgado *et al.*, 2003).

2.1.6.8 CANELA (*Cinnamomum verum* J. Presi)

Características

El árbol de la canela (*Cinnamomum verum* J. Presi) (Fig. 9) es un árbol de hoja perenne, de unos 10-15 m, procedente de Sri Lanka. Se aprovecha como especia su corteza interna, extraída pelando y frotando las ramas y se utiliza en rama y molida.

Clasificación científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Laureles

Familia: Lauraceae

Género: *Cinnamomum*

Especie: *verum*

Nombre científico: *Cinnamomun verum*



Fig. 9. Canela (*C. verum*).

Composición química

En el Cuadro 8 se observa la composición química de la canela, donde se muestra que posee un alto contenido de fibra y carbohidratos.

Cuadro 8. Composición por cada 100g de canela en polvo.

Componentes	Contenido
Calorías	261.3 kcal
Proteína	3.9 g
Carbohidratos	25.55 g
Fibra	54.30 g
Grasas	3.19 g
Agua	9.55 g

Fuente: USDA Nutrient database, 2006.

Componentes activos

- Ácidos: ascórbico, palmítico, p-cumérico.
- Terpenos: alfa-pineno, alfa-terpineno, alfa-ylangeno, beta-pineno, camfeno, cariofileno, limoneno, linalol.

- Cumarinas.
- Aceite esencial: rico en benzaldehído, eugenol, farnesol, gamma-terpineol, geraniol, isogeneol, cariofileno.
- Furfural.
- Alcanfor

(Botanical, 2000).

Potencial antimicrobiano

El aldehído cinámico es un compuesto fenólico de la canela, es seguro para su uso en alimentos, en muchos alimentos se emplea como saborizante (Petroni, 2002).

El aldehído cinámico (3-fenil-2propenal) es el principal componente antimicrobiano de la canela, no solo existe actividad antibacteriana sino que también inhibe el crecimiento de hongos y la producción de micotoxinas.

Hitokoto *et al.*, (1978) reportan que la canela tiene un fuerte efecto inhibitorio en mohos, incluyendo *Aspergillus parasiticus*, Bullerman (1983) también observó un efecto inhibitorio de la canela en *Aspergillus parasiticus*, encontrando que de 1 a 2% de concentración de canela puede permitir algún crecimiento de *Aspergillus parasiticus* sin embargo, se observó la inhibición de la producción de aflatoxinas en un 99%.

Los japoneses reportan el uso de aldehído cinámico como un agente antimicrobiano en pasta de pescado (Shimada *et al.*, 1991). Estudios hechos por investigadores de la universidad de Bath en el Reino Unido sobre las propiedades antimicrobianas del ácido cinámico en el laboratorio, han demostrado que el aldehído cinámico es particularmente efectivo contra mohos y levaduras en pH ácidos. Los investigadores de Bath encontraron que el aldehído cinámico usado para rociar o sumergir diversas frutas, aumenta la vida de anaquel de duraznos, peras, clementinas, manzanas, chabacanos y nectarinas enteras, así como rebanadas de tomate, mango, melón, manzana, sandía, limón y kiwi. Sin embargo, el tratamiento de alguna frutas

con altas concentraciones de ácido cinámico causaron oscurecimiento en nectarinas, limas y peras (Roller, 1995).

Se ha reportado que el aldehído cinámico, contiene un antimicótico natural, inhibiendo la producción de aflatoxinas (Hitokoto *et al.*, 1978), el ácido cinámico y los derivados del aldehído cinámico provienen de plantas y frutas, y son formados como una protección natural contra infecciones y microorganismos patógenos (Mazza y Miniati, 1993; Davidson, 1996).

Leewellyn *et al.*, (1981) demostraron que las especies como canela, clavo, mostaza y orégano inhibieron el crecimiento micelial y subsecuente la producción de micotoxinas de dos cepas de *Aspergillus flavus* y una de *A. parasiticus*.

2.1.6.9 CLAVO (*Syzygium aromaticum* L.)

Características

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum* L.) (Fig. 10) son los brotes secos aromáticos de las flores del árbol de clavo nativo de Indonesia. Los clavos son cosechados principalmente en Indonesia y en Madagascar, también crece en Zanzíbar, India, y en Sri Lanka. El árbol del clavo es perenne y crece hasta una altura de 10 a 20 metros. Tiene hojas largas y ovales y flores en forma de trébol en numerosos grupos de ramilletes. Los brotes de la flor inicialmente presentan un color pálido que gradualmente cambia al verde y después de lo cual comienzan a adquirir un color rojizo brillante indicativo de que están listos para recolectarse. Usualmente son cosechados cuando alcanzan una longitud de 1.5 a 2 cm y consisten de un largo cáliz que termina en 4 sépalos extendidos y cuatro pétalos aún sin abrir (Chami, 2005).

Clasificación Científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: *Syzygium*

Especie: *aromaticum*

Nombre científico: *Syzygium aromaticum*



Fig.10 Clavo (*S. aromaticum*).

Composición Química

En la composición química destaca su riqueza en aceite esencial, formado mayoritariamente por eugenol (90%), cariofileno (15%), furfural, vanillina, salicilato de metilo, pirocatecol, metil- cetona y aldehidos valeriánicos.

También contiene eugenina, isoeugenitol, isoeugenitina, y eugenitina. Además de tener taninos, mucílagos, sitosterol, estigmaterol, resinas, celulosa, cariofileno, pineno, ác. oleanólico y aceite fijo (Botanical, 1999).

Componentes Activos

El compuesto responsable del aroma del clavo es el eugenol que es el principal componente activo del aceite esencial extraído de los clavos ya que va de un 72-90%. El Eugenol tiene pronunciadas propiedades antisépticas, antifúngicas y anestésicas.

2.2 MAÍZ (*Zea mays* L.)

2.2.1 Generalidades

El maíz (*Zea mays* L.) (Fig. 12) es una gramínea anual originaria de las Américas introducida en Europa en el siglo XVI. Actualmente, es el cereal con mayor volumen de producción en el mundo, superando al trigo y el arroz.

La dependencia de México y de la mayor parte de los países de América acerca del maíz como base alimenticia es significativa, esto se debe a que desde épocas precolombinas fue la base de la alimentación, junto con el cacao, chile, y calabaza.

En la Figura 11 se muestra la tasa de consumo de maíz per cápita a nivel mundial; como se observa, México, Guatemala, El Salvador, y los países del Sur de África, encabezan la lista de los principales consumidores de maíz. (INFOAGRO, 2009).

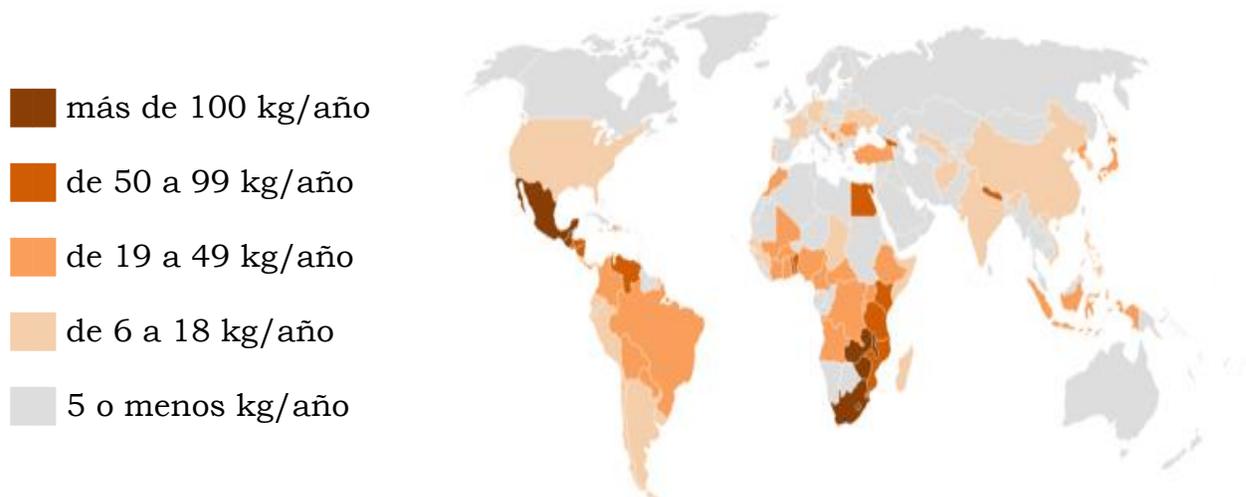


Figura 11. Tasa de consumo per cápita de maíz a nivel mundial.

2.2.2 Clasificación Científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *mays*

Nombre científico: *Zea mays*



Figura 12. Maíz (*Z. mays*).

2.2.3 Composición Química

En el cuadro 9 se muestra la composición química del grano de maíz según Kent (1987).

Cuadro 9. Composición Química del Maíz por 100 g de materia seca.

Componente	Contenido (%)
Humedad	10.8
Proteína	10.0
Grasa	4.3
Fibra cruda	1.7
Cenizas	1.5
CHOs	71.7

Fuente: Kent, 1987.

2.2.4 Descripción Botánica

➤ Tallo

El tallo es simple erecto, de elevada longitud pudiendo alcanzar los 4 metros de altura, es robusto y sin ramificaciones. Por su aspecto recuerda al de una caña y no presenta entrenudos.

Está compuesto a su vez por tres capas: una epidermis exterior, una pared por donde circulan las sustancias alimenticias y una médula de tejido esponjoso y blanco donde almacena reservas alimenticias, en especial carbohidratos.

➤ Inflorescencia

El maíz es una planta monoica con inflorescencia masculina y femenina separada dentro de la misma planta.

En cuanto a la inflorescencia masculina presenta una panícula (vulgarmente denominadas espigón o penacho) de coloración amarilla que posee una cantidad muy elevada de polen en el orden de 20 a 25 millones de granos de polen. En cada florecilla que compone la panícula se presentan tres estambres donde se desarrolla el polen. En cambio, la inflorescencia femenina marca un menor contenido en granos de polen, alrededor de los 800 o 1000 granos y se forman en unas estructuras vegetativas denominadas espádices que se disponen de forma lateral.

➤ Hojas

Las hojas son largas, de gran tamaño, con extremos afilados y cortantes, se encuentran abrazadas al tallo, del cual nacen las espigas o mazorcas. Cada mazorca consiste en un tronco u olote que está cubierta por filas de granos, la parte comestible de la planta, cuyo número puede variar entre ocho y treinta.

➤ Raíces

Las raíces son fasciculadas y su misión es la de aportar un anclaje a la planta. En algunos casos sobresalen unos nudos de las raíces a nivel del suelo y suele ocurrir en aquellas raíces secundarias o adventicias.

(Infoagro, 2009)

2.2.5 Requerimientos del Cultivo

➤ Clima

El maíz requiere una temperatura de 25 a 30 °C, una incidencia de luz solar alta, en climas húmedos su rendimiento es más bajo. Para que se produzca la germinación en la semilla la temperatura debe situarse entre los 15 a 20 °C.

Llega a soportar temperaturas mínimas de hasta 8°C y a partir de los 30 °C pueden aparecer problemas serios debido a mala absorción de nutrientes minerales y agua. Para la fructificación se requieren temperaturas de 20 a 32 °C.

➤ Riegos

El maíz es un cultivo que requiere agua, el riego más empleado en los últimos años es por aspersión. Las necesidades hídricas van variando a lo largo del cultivo y cuando las plantas comienzan a crecer se requiere menos cantidad de agua manteniendo una humedad constante. En la fase del crecimiento vegetativo es cuando más cantidad de agua se requiere y se recomienda dar un riego unos 10 a 15 días antes de la floración. Durante la fase de floración, que es el periodo más crítico porque de ella va a depender la cantidad de producción obtenida, se aconsejan riegos que mantengan la humedad y permita una eficaz polinización. Por último, para el engrosamiento y maduración de la mazorca se debe disminuir la cantidad de agua aplicada.

➤ Suelo

El maíz se adapta muy bien a todo tipo de suelo, pero suelos con pH entre 6 a 7 son los mejores. También requieren suelos profundos, ricos en materia orgánica, con buena circulación del drenaje para no producir encharques que originen asfixia radicular.

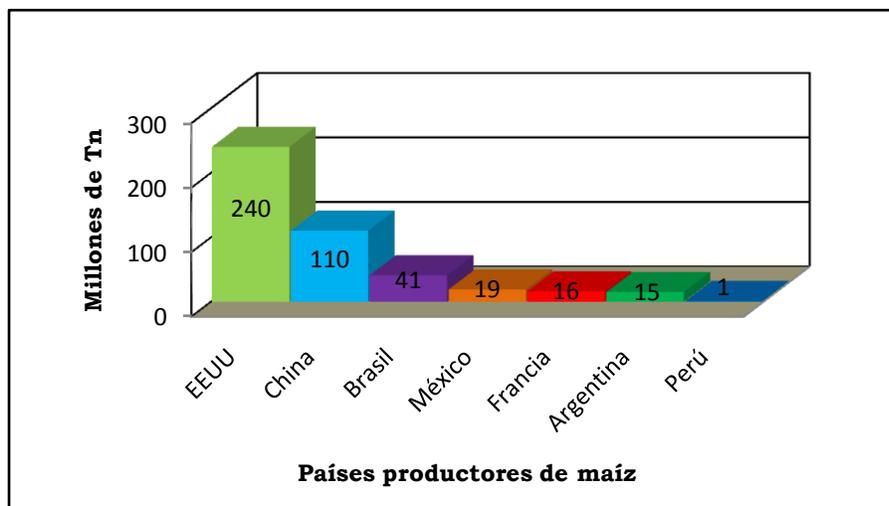
(Infoagro, 2009)

2.2.6 Producción

La producción mundial del Maíz alcanzó los 880 millones de toneladas en el año 2001, comparado con los 570 millones de toneladas de trigo o los 400 millones de arroz, se comprende la importancia básica a nivel mundial del maíz, no sólo económicamente sino a todos los niveles.

En el Cuadro 10 se puede observar que Estados Unidos es el mayor productor de maíz con 240 millones de Tn al año que representa cerca del 45% de la producción total mundial, seguido de China y Brasil con 110 y 41 Millones de Ton de maíz respectivamente (FAO, 2001).

Cuadro 10. Producción mundial de maíz en 2001.



Fuente: FAO, 2001.

2.2.7 Usos en la industria de alimentos.

Por tradición el maíz ha sido un cultivo para grano con fines forrajeros, sin embargo, la industria está buscando y encontrando nuevas alternativas de uso para el cultivo del maíz tanto para la alimentación humana como para la industria ya que es una fuente rica en almidón y en aceites de alta calidad.

El cultivo del maíz es probablemente uno de los más aptos para la producción de almidón ya que éste ofrece un gran potencial de aplicaciones en la industria y un número creciente de subproductos. Un ejemplo de producto derivado del almidón de maíz es el jarabe de alta fructosa empleado como endulzante de bebidas gaseosas.

La maltodextrina es un carbohidrato insípido, fácilmente digerido que se obtiene de la hidrólisis del almidón. Uno de sus usos es como inhibidor de la cristalización; agregado en caramelos y dulces mitad-suaves, puede prevenir la arena que aparece de los dulces y ampliar la vida útil (Culturismo, 2009).

Otra área en la que el uso no tradicional del maíz puede crecer es en la producción de aceites. El aceite de maíz es más rico en ácidos grasos oleico y linoleico que contribuyen a una mejor salud, además de permitir una mayor estabilidad frente a la cocción.

El maíz es una planta altamente eficiente en la captación y transformación de energía gracias a su metabolismo, de modo que los contenidos porcentuales de aceite en el grano de maíz podrían incrementarse hasta llegar a valores muy altos y así ser de gran importancia en la industria de alimentos.

Desarrollar cultivos de maíz productores de aceites es totalmente factible y solo requiere que se cambie el foco del mejoramiento y que exista la demanda y el precio adecuado (Sanguinetti, 2009).

En el Cuadro 11 se muestran algunas aplicaciones del maíz (*Z. mays*) en la industria alimentaria.

Cuadro 11. Usos del maíz en la industria de alimentos.

Producto	Aplicaciones
Bebidas en polvo	Se utilizan maltodextrinas que facilitan el proceso de secado, sin alterar los sabores.
Aderezos	El almidón modificado provee una excelente consistencia bajo condiciones de acidez, agitación y calentamiento.
Edulcorantes	Jarabe de maíz, Fructosa, Sorbitol, Glucosa.
Lácteos	Utilizan maltodextrinas como agentes de secado por su capacidad de encapsular sabores y grasas. En quesos, el almidón aporta textura y retiene agua. En yogurt y helados, las maltodextrinas aportan cuerpo y cremosidad.
Panificación	Las maltodextrinas, sólidos de jarabe de maíz y almidones modificados, ayudan a controlar propiedades como la retención de agua en los pasteles, la inhibición de cristalización, la consistencia en rellenos cremosos, crema pastelera, etc.
Cárnicos	Utilizan maltodextrinas y sólidos de jarabe de maíz para controlar propiedades de jamones y embutidos (sabor, retención de agua, apariencia más brillante, etc.)
Confituras	Las maltodextrinas se utilizan como agentes de formación de pastillas comprimidas; humectantes y mejoradores de flexibilidad en caramelos suaves, etc.

Fuente: Sanguinetti, 2009.

2.3 NUEZ PECANERA (*Carya illinoensis* Koch).

2.3.1 Generalidades

La nuez pecanera o pacana (*Carya illinoensis* Koch.)(Fig. 13) es una especie del género *Carya*, nativa del noreste de México (Coahuila y Nuevo León) y sureste de Estados Unidos (Indiana, Iowa, Misisipi y Texas)(Harrelnut, 2009).

Es un árbol caducifolio, crece de 25 a 40 m de altura, en veranos calurosos y húmedos. Los árboles de pacana se denominan pacanos y pueden dar frutos durante más de trescientos años. Algunas variedades de frutos seleccionadas miden hasta 5 cm de longitud y cuando están maduras la cáscara se rompe con facilidad (Portal gastronómico, 2009). Se trata de un fruto, rodeado por una cubierta leñosa, la cual es carnosa por fuera y dura hacia adentro, con el interior dividido, pero de forma incompleta, en 2 ó 4 celdas que contienen la semilla y que es la porción comestible.

La nuez es una excelente fuente de proteína y energía. Varias investigaciones han demostrado que debido a que la mayor parte de la grasa en la semilla de la nuez es insaturada su consumo ayuda a mantener nivelado el colesterol en la sangre. Además la nuez aporta otros elementos saludables a la dieta, como fibra, hierro, calcio, vitaminas y gamma-tocoferol, un eficiente antioxidante. (Grupo Alta, 2007).

2.3.2 Clasificación científica

Reino: Plantae

División Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fagales

Familia: Juglandaceae

Género: *Carya*

Especie: *Illinoensis*

Nombre científico: *Carya illinoensis*



Figura 13. Nuez Pecanera (*C. illinoensis*)

2.3.3 Composición Química

La nuez es uno de los frutos con mayor contenido en hierro, fácilmente asimilable por la presencia de vitamina C.

En el Cuadro 12 se muestran la composición química que contiene la nuez de pecanera.

Cuadro 12. Composición Química de la nuez por 100 g de materia seca.

Componente	Contenido (%)
Lípidos	66
Proteínas	18
Potasio (mg)	500
Fósforo (mg)	350
Calcio (mg)	100
Sodio (mg)	3
Hierro (mg)	3
Calorías (kcal)	678

Fuente: INFOAGRO, 2009.

2.3.4 Requerimientos del Cultivo

➤ Temperatura.

Deben evitarse lugares cuyas temperaturas primaverales puedan descender a menos de 1°C, ya que pueden ocasionar daños por heladas en los brotes nuevos y pequeños frutos.

El nogal es muy sensible a las heladas de primavera, que mermarán sustancialmente la cosecha, pero también a las heladas precoces de otoño actuando muy negativamente en su desarrollo durante los primeros años; en tanto que en el periodo juvenil puede llegar a producirse la muerte de toda la parte aérea de la planta.

Si se dan temperaturas superiores a los 38 °C acompañadas de baja humedad es posible que se produzcan quemaduras por el sol en las nueces más expuestas. Si esto sucede al comienzo de la estación, las nueces resultarán vacías, pero si es al final las semillas pueden arrugarse, oscurecerse o adherirse al interior de la cáscara.

En climas muy templados y en situaciones bajas, afectadas por vientos secos y cálidos procedentes del sur, además de provocar la caída prematura de las hojas, difícilmente puede salvarse la cosecha por la presencia del lepidótero *Cydia pomonella* L. causante del agusanado del fruto.

➤ Agua

Es muy sensible a la sequía, siendo impropio para ser cultivado en tierras de naturaleza seca. Para que su cultivo sea posible necesita de precipitaciones mínimas de 700 mm, que equivale al espesor de la lámina de agua que se formaría a causa de la precipitación sobre una superficie plana e impermeable. Si la pluviometría es insuficiente o está irregularmente repartida, habrá que recurrir al riego para conseguir un desarrollo normal de los árboles y una buena producción de nuez.

➤ Suelo

Es un árbol que se adapta bien a diferentes tipos de suelos aunque los suelos profundos y con buena fertilidad son mejores. El drenaje estará determinado por subsuelos formados por caliza fisurada, etc.

Para una buena retención de agua se recomiendan suelos con un contenido en materia orgánica entre 1.2 y 2% y un 18 a 25% de arcilla. El nogal se desarrolla en suelos con pH neutro (6,5 - 7,5).

(Infoagro, 2009)

2.3.5 Producción

Es un árbol de gran importancia económica, tanto por la producción de los frutos como por el leño, siendo una de las especies frutales más rentable actualmente.

En el Cuadro 13 se muestran la mayoría de los países productores de nuez que han aumentado su escala operativa para reducir el costo en la adquisición de los insumos, así como para el procesamiento de la nuez, donde se ha logrado avanzar tanto en la presentación del producto como en la diversificación de usos para lograr un producto diferenciado. En general, la mejora de la competitividad en el cultivo del nogal, ha reflejado el aumento de la superficie cultivada (FAO, 2001).

2.3.6 Usos en la industria de alimentos.

La nuez puede ser utilizada en una diversidad de productos manufacturados comercialmente y también en la preparación de alimentos. Se puede combinar con alimentos dulces y salados.

Existen muchas variedades de la nuez, se vende entera, sin cáscara, molida y cortada, fresca o seca. Son sumamente versátiles y se pueden usar en distintas épocas de su desarrollo.

Cuanta más agua tenga la nuez, más fresca será. Las nueces verdes que no llegan a desarrollar una cáscara dura se recogen en verano para preparar conservas y salsas de tomate. Las nueces húmedas se recogen a principios de otoño, tienen la pulpa húmeda y una cáscara dura. Su sabor es delicioso y aromático, y combinan bien con platos salados. Las nueces secas, las más comunes son simplemente una versión más envejecida de las nueces húmedas, de las que se ha evaporado el agua.

Cuadro 13. Producción de Nuez en el año 2001.

Países	Producción (Ton)
China	330.000
Estados Unidos	254.000
Turquía	136.000
India	31.000
Francia	28.000
Grecia	20.000
México	18.500
Alemania	14.500
Chile	12.500
España	10.000
Argentina	8.900
Hungría	6.500
Suiza	4.000
Portugal	3.500
Brasil	2.650

Fuente: FAO, 2001.

2.4 HONGOS EN GRANOS Y SEMILLAS

Dentro de los factores bióticos que ocasionan deterioro en granos y semillas, los hongos juegan un papel importante ya que afectan su poder germinativo, y su calidad nutricional y sanitaria como granos alimenticios (Moreno, 1988).

Se han reportado más de 150 especies de hongos en granos y semillas; la mayoría de estas especies se encuentran como contaminantes superficiales debido a que la principal forma de propagación de las esporas es por medio del aire (Sauer, 1992).

Los hongos que atacan a los granos y semillas se han dividido ecológicamente en tres grupos: hongos de campo, hongos de almacén y hongos de deterioro avanzado (Moreno, 1988).

2.4.1 Hongos de Campo

Se ha denominado así a este grupo de hongos debido a que invaden a las semillas cuando las plantas aún están creciendo en el campo o cuando se han cortado y separado pero antes de la trilla. La invasión es más común en climas húmedos o donde las lluvias son frecuentes que en climas secos, aunque el clima alrededor de la semilla es a menudo lo suficientemente húmedo como para permitir cierta invasión de los hongos a los tejidos de la semilla (Sauer, 1992).

Para su crecimiento, estos hongos de campo requieren de humedades relativas del 90 al 100%, lo que en semillas de cereales equivale a un contenido de humedad del 20% o superior, en base húmeda (Sauer, 1992). Son agentes causales de enfermedades de los cultivos además de que pueden ser transmitidos de un ciclo agrícola a otro a través de las semillas.

Los hongos predominantes dependerán del tipo de cultivo, localización geográfica y clima; sin embargo, en trigo, arroz, cebada y avena, que se

cultivan en prácticamente todo el mundo, los principales hongos que invaden las semillas son especies de los géneros *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* y *Helminthosporium* (Christensen y Kaufmann, 1969).

Los hongos pueden afectar la apariencia y calidad de granos y semillas para casi cualquier propósito con el que vayan a ser utilizadas. Generalmente el daño ocasionado por estos hongos se presenta antes de la cosecha, puede ser detectado por inspección rutinaria y no continúa incrementándose durante el almacenamiento. Los hongos de campo tienden a desaparecer gradualmente con el almacenamiento, dependiendo del contenido de humedad y temperatura de las semillas almacenadas. (Christensen y Kaufmann, 1969; Moreno, 1988).

2.4.1.1 *Fusarium*

El género *Fusarium* es uno de los hongos de campo más importantes, debido a que es el agente causal de diversas enfermedades en plantas, así como también pueden producir micotoxinas, las cuales afectan a los animales y humanos (Richard *et al.*, 2000).

Algunas especies de *Fusarium* afectan a cereales, otras especies pueden crecer en el refrigerador y aquéllas con capacidad competitiva contribuir a la podredumbre de frutas y hortalizas almacenadas. La persistencia del *Fusarium* en el suelo durante uno a varios años se debe, principalmente, a la presencia de las clamidosporas, éstas requieren para germinar, fuentes exógenas de nutrimentos (Lacey, 1989).

Características Morfológicas

La forma y tamaño de los conidios es la característica principal para el reconocimiento del género *Fusarium* (Fig. 14). Los conidios están dispersos en el micelio aéreo, en esporodoquios o masas mucilaginosas efusas llamadas pionnótides. Los macroconidios son curvados, multicelulares, con

una célula apical más o menos puntiaguda y en muchas especies con una célula basal en forma de pie. Los microconidios son comúnmente unicelulares, elipsoidales, fusiformes, claviformes, piriformes o subglobosos, similares en ancho a los macroconidios, con una base redondeada o truncada, por lo general formando cabezuelas mucosas, pero en algunas especies en cadenas basípetas. No siempre son producidos ambos tipos de esporas. Los conidióforos del micelio aéreo en algunos casos sólo constan de una célula conidiógena, en otros están ramificados, a veces en verticilos. Las monofiálides producen conidios desde una sola abertura y en las polifiálides surgen las esporas desde más de una abertura en la misma célula (Booth, 1971). La presencia de una célula basal con forma de pie en los macroconidios se considera característica del género *Fusarium*. A su vez unas pocas especies de *Fusarium* presentan conidios multicelulares sin célula basal y se les llama mesoconidios. Algunas especies presentan clamidosporas terminales, laterales o intercalares, a veces formando cadenas. Las células conidiales ocasionalmente se transforman en clamidosporas. Algunas especies forman esclerocios irregulares, de color beige, ocre, pardo o gris oscuro.

Las colonias de las distintas especies de *Fusarium* crecen de moderada a profundamente, tienen diversos colores (blanco, rosado pálido, rojo, anaranjado, púrpura, celeste, verde aceituna o pardo), especialmente en el reverso de la colonia, excepto pardo oscuro o negro. El micelio es denso, ya sea algodonoso, como un fieltro o con una zona central de funículos, pero en algunos casos es mucilaginoso. Hay especies de *Fusarium* con pionótides de color anaranjado (Seifert, 2001).

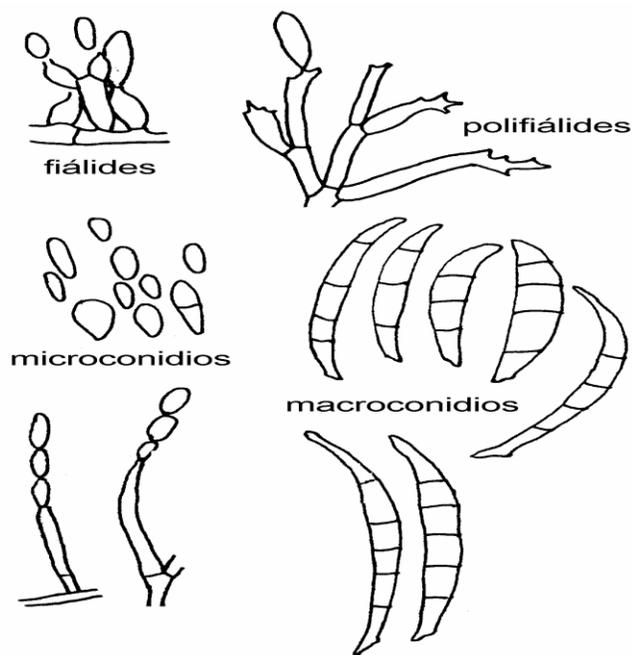


Figura 14. Estructuras morfológicas de *Fusarium spp.*

***Fusarium graminearum* Schwabe**

Es un hongo de campo que causa la roña del trigo, avena y cebada. En el maíz es el agente causal del tizón de la plántula, pudriciones del tallo y de la mazorca de maíz.

Si este hongo continúa su desarrollo en las mazorcas cuando éstas son almacenadas durante el otoño y el invierno (bajas temperaturas), se puede formar el compuesto estrogénico que se conoce como zearalenona, micotoxina de gran importancia; sin embargo, la zearalenona, también se ha encontrado en granos de maíz recién cosechados que no han sido almacenados ni expuestos a bajas temperaturas (Moreno, 1988).

Las colonias de *F. graminearum* presentan abundante micelio blanco con apariencia algodonosa. Este hongo presenta macroconidios y clamidosporas, no presenta microconidios. Cuando presenta esclerocios éstos son de color rosa pálido, púrpura o rojo intenso. El color de la colonia puede ser rosa, rosa pálido, rosa-gris, rojo o café, carmín y en ocasiones amarillo (Moreno, 1988).

***Fusarium moniliforme* J. Sheld**

Este es un hongo muy común que se aísla fácilmente de los granos de maíz, infecta los tallos de las plantas y llega hasta la base de los granos. Si durante la formación de la mazorca se presentan condiciones de alta humedad, los granos son deteriorados por este hongo, causando la pudrición de la mazorca.

El color de *F. moniliforme* es rosa, este hongo crece en los orificios hechos por gusanos e insectos que atacan a la mazorca. Para su desarrollo se requieren de altos contenidos de humedad en los granos de maíz (arriba del 22%), por lo tanto, no continúa su desarrollo en un almacenamiento normal.

Esta especie es productora de varias micotoxinas, entre ellas zearalenona, moniliformina y fusarina. Además de los macroconidios esta especie presenta microconidios ovoides en cadenas, lo que la distingue de otras especies.

Las colonias de *F. moniliforme* son de color blanco, de color durazno, crema pálido, violetas o de color lila, el aspecto de las colonias es pulverulento (Moreno, 1988).

***Fusarium oxysporum* Schlecht**

F. oxysporum es predominantemente un saprófito abundante y activo del suelo y de materia orgánica. Además algunas cepas tienen una actividad patogénica específica, pero constituyen una porción muy pequeña de la población total del suelo aunque causan enfermedades importantes en los cultivos, algunas causan muerte de plántulas, necrosis o podredumbres. En general causan pérdidas en plantas pertenecientes a todas las familias importantes de angiospermas en regiones templadas o tropicales (Smith, 2002).

Esta especie es la más importante del género *Fusarium*, las colonias tienen un aspecto variable que dependen de la cepa; en general el micelio aéreo y el

medio cambia de color a distintos tonos desde violeta a morado oscuro; si abundan los esporodoquios las colonias pueden aparecer crema o naranja. Los microconidios son de oval a elipsoides, mono o bicelulares, y se forman en fialides cortas no ramificadas, nunca en cadena. Los macroconidios, normalmente 3-5 septados, son fusoides, ligeramente curvados y a menudo tienen una célula basal pedicelada; se forman al principio en fialides individuales, luego en esporodoquios. Las clamidosporas son solitarias o están en cadenas cortas (Agrios, 1998).

2.4.2 Hongos de Almacén

Los hongos de almacén comprenden cerca de una docena de especies *Aspergillus*, varias especies de *Penicillium*, una sola especie de *Sporendonema* y posiblemente algunas especies de levaduras (Christensen y Kaufmann, 1969).

Salvo algunas excepciones, estos hongos no infectan a las semillas significativamente antes de la cosecha; su hábitat natural no es el campo, sino el almacén, la bodega, el silo y las trojes; se desarrollan principalmente bajo condiciones de baja humedad relativa (65 a 90%), después de la cosecha, durante el transporte, el secado lento, el almacenamiento y procesamiento de los granos. Los principales daños que ocasionan estos hongos a los granos y semillas almacenadas son la reducción del poder germinativo de las semillas, el ennegrecimiento de los granos y la producción de micotoxinas (Moreno, 1988).

Existe una gran cantidad de factores que determinan el grado de invasión en el grano almacenado: el contenido de humedad del grano, su temperatura, la cantidad de grano quebrado y materia extraña presente, el grado de invasión por hongos de almacén que ha sufrido el grano antes de llegar a un lugar determinado, la presencia de insectos y el tiempo de almacenamiento. Aunque todos estos factores interactúan entre sí en algún grado, los

principales factores de riesgo son el contenido de humedad, la temperatura y el período de almacenamiento.

En el Cuadro 14 se presentan los contenidos de humedad de diferentes granos y semillas en equilibrio con distintas humedades relativas (de 65-90%) y los hongos que pueden invadirlos a los contenidos de humedad señalados.

Cuadro 14. Contenidos de humedad en equilibrio a humedades relativas y hongos encontrados.

Humedad Relativa (%)	Semillas de cereales (%)	Soya (%)	Cacahuete y Girasol (%)	Hongos
65- 70	12- 14	11- 12	6 – 8	<i>A.halophilicus</i>
70-75	13- 15	12- 14	7- 10	<i>A.restrictus</i> , <i>A.glaucus</i> , <i>Wallemia sebi</i>
75- 80	14- 16	14- 16	8- 11	<i>A.candidus</i> , <i>A.ochraceus</i>
80- 85	15- 18	16-19	9- 13	<i>A.flavus</i> , <i>Penicillium spp.</i>
85- 90	17- 20	19- 23	10-16	Cualquiera de los anteriores

Fuente: Christensen y Kaufmann, 1969; Sauer, 1992.

2.4.2.1 *Penicillium*

Son hongos comunes que se desarrollan sobre los más diversos sustratos: granos, paja, cueros, frutas, etc. Su identificación con base a las características morfológicas fue caótica hasta que Pitt (1980) estableció las condiciones de cultivo y Frisvad (1981) consideró la formación de los

metabolitos secundarios en la descripción de las especies. La importancia de estos hongos en la alimentación humana y animal se debe a que, además de causar deterioro, producen toxinas (Pitt y Leistner 1991).

Clasificación

El género *Penicillium* está subdividido en grupos o subgéneros de acuerdo a la morfología de los penicilos (Fig. 15) aunque también se tiene en cuenta la macromorfología de la colonia. La serie *Monoverticillata* (Bridge *et al.*, 1992) o subgénero *Aspergilloides* (Pitt y Hocking 1997), comprenden a todos los penicilos monoverticilados con conidióforo que porta un solo verticilo de fiálides, las cuales nacen directamente del estípote.

La serie *Terverticillata* o subgénero *Penicillium*, comprende a las especies que tienen tres, a veces cuatro, niveles de ramificaciones, es decir, que sus fiálides siempre nacen de métulas y éstas generalmente nacen de ramas terminales de un conidióforo bien definido y son de crecimiento relativamente rápido sobre Czapek-Glicerol. Las especies con penicilos biverticilados, generalmente simétricos con métulas y fiálides, cuyas colonias son de crecimiento lento sobre Czapek-Glicerol se agrupan en la serie *Biverticillata symmetrica*, o subgénero *Biverticillium*, pero a veces suele haber algunos pinceles terverticilados. Las fiálides son delgadas, con el ápice alargado y alcanzan la misma longitud que las métulas. Si los pinceles son biverticilados o irregulares, a veces junto a monoverticilados, con las fiálides en forma de ánfora y más cortas que las métulas, se las reúne en el subgénero *Furcatum* que comprende especies de las series *Biverticillata asymmetrica* y *Divaricata*. Las colonias de este subgénero crecen relativamente rápido en Czapek-Glicerol (Bridge *et al.* 1992, Pitt y Hocking 1997).

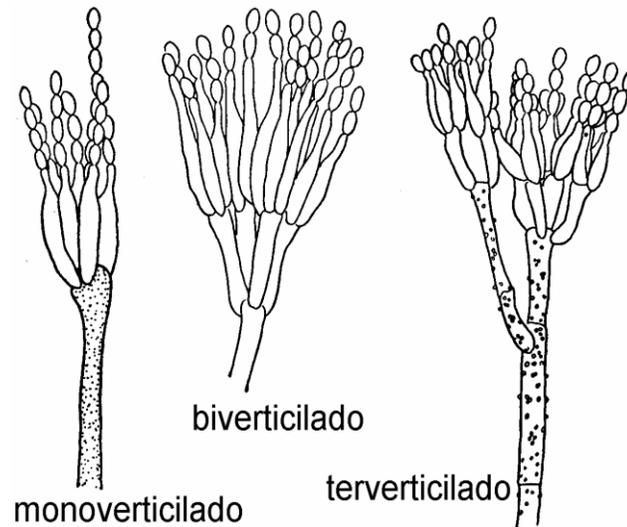


Figura 15. Aspecto de penicilos.

Características Morfológicas

Este género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada llamada conidióforo semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides.

En la Figura 16 se esquematizan los tipos de conidióforos del género *Penicillium*, cuyas ramificaciones se ubican formando verticilos. Si hay sólo un verticilo de fiálides el pincel es monoverticilado. Las ramificaciones de un penicilo poliverticilado son ramas, râmulas, métulas y fiálides. Los conidios generados en fiálides suelen llamarse fialoconidios para indicar su origen. En la fiálide, al dividirse el núcleo, se extiende simultáneamente el extremo apical que luego se estrangula separando a la espora recién formada. Se llama collula a la porción de pared que une entre sí a los conidios permitiendo la formación de cadenas, y en algunas especies se aprecia claramente con el microscopio óptico (Webster, 1986).

Las hifas alcanzan un diámetro entre dos o tres micrómetros y tienen septos con un poro central que no es visible al microscopio óptico. Las paredes del estípote, las ramas o las métulas pueden ser lisas, rugosas o equinuladas. La pared de las fiálides es siempre lisa.

Las fiálides pueden tener forma de ánfora o bien ser casi cilíndricas con la porción apical en forma de cono. El tamaño máximo de las fiálides es de 15 mm y la parte terminal no supera los 3 mm de largo. Los conidios son esféricos o elipsoidales, unicelulares, hialinos que en masa se ven de color verde, verde azulado, verde aceituna o gris. La pared de los conidios es lisa o rugosa según las especies (Webster, 1986).

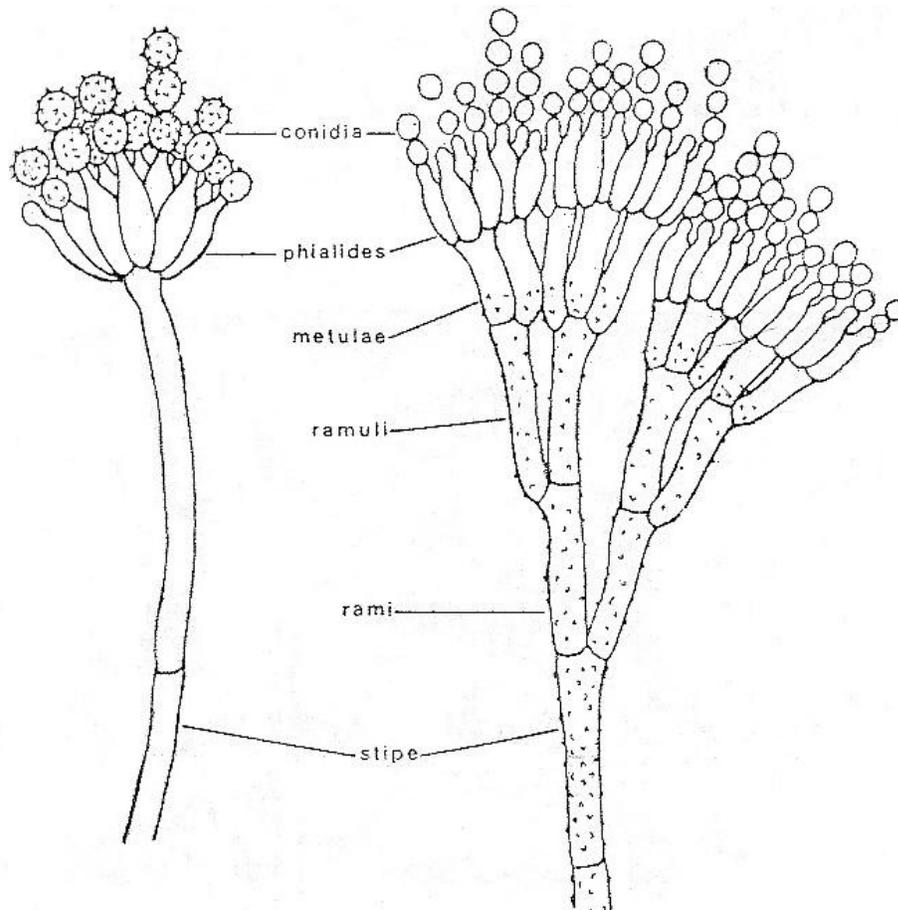


Figura 16. Estructura morfológica del género *Penicillium* spp (Pitt, 1980).

***Penicillium olsonii* Bainier & Sartory**

Es un hongo de almacén perteneciente a la serie *Olsonii*. Son capaces de crecer tanto en actividades de agua y temperaturas muy bajas, pero no toleran temperaturas altas. Esta especie se encuentra en todo el mundo, usualmente en regiones tropicales.

Las colonias de *P. olsonii* son de tamaño moderado, presentan un aspecto velutinoso, son de color verde, el micelio es blanco o café pálido y al reverso amarillo pálido o café amarillento. Los estípites son muy largos y amplios de paredes lisas, el penicilio generalmente es terverticilado, multiramificado y forma conidios elipsoidales de paredes lisas (Samson y Pitt, 1990).

***Penicillium oxalicum* Currie & Thom**

Es un hongo perteneciente a la serie *Oxalica*, el cual se caracteriza por penicilios bien desarrollados, robustos, de fiálides largas, conidios que crecen rápidamente de forma cilíndrica o elipsoidal y las colonias presentan un aspecto velutinoso. Su crecimiento es pobre en actividades de agua bajas, crece a temperaturas bajas considerando que a 37 °C su desarrollo es nulo (Samson y Pitt, 1990).

***Penicillium funiculosum* Thom**

Perteneciente a la serie *Islandica*. Las cepas son velutinosas, de crecimiento rápido, flocosas, de color gris verdoso, estípites cortos y conidios cilíndricos muy pequeños (Samson y Pitt, 1990).

***Penicillium janthinellum* Biourge**

Esta especie de *Penicillium* pertenece a la serie *Janthinella*, se caracteriza por penicilios fuertemente ramificados con terminales irregulares, y de estructura biverticilada o en algunas ocasiones monoverticilada. Las colonias crecen rápidamente, de aspecto flocoso y de conidiogénesis ligera. Estípites delicados y de paredes lisas. Conidios de forma esferoidal con paredes lisas o finamente rugosas (Samson y Pitt, 1990).

2.4.3 Hongos de deterioro avanzado

Estos requieren altos contenidos de humedad para su desarrollo ($HR \geq 90\%$) y en la naturaleza se les encuentra colonizando materia orgánica en proceso de descomposición. Si los hongos aislados de granos u otros productos,

pertenecen a este grupo, es un signo de mala calidad de estas materias primas, las que deberán ser consideradas con las máximas precauciones para su posible utilización en la alimentación animal. A los hongos de este grupo difícilmente se les aísla de granos destinados al consumo humano, ya que a esos granos, que prácticamente están en estado avanzado de pudrición, normalmente se les destina al consumo animal, con los consiguientes riesgos sanitarios (Moreno, 1988).

La humedad del grano, su temperatura y el grado de aereación son tres de los factores más importantes que determinan el tiempo de almacenamiento y deterioro del grano (Sauer, 1992). Actualmente el combate de los hongos solo se logra secando los granos a niveles de humedad desfavorables para su desarrollo; a contenidos de humedad de los granos en equilibrio con humedades relativas menores del 75%. Otra manera de retardar el crecimiento de los hongos es almacenando los granos a bajas temperaturas, sin embargo, el factor más importante es el contenido de humedad de los granos y de los productos almacenados (Moreno, 1988).

Debido a que la expresión del contenido de humedad de los productos en equilibrio con una determinada humedad relativa varía de acuerdo a su contenido de materia hidrofílica, se recomienda que en lugar de indicar los contenidos de humedad que requieren los hongos para su desarrollo, se haga referencia a la actividad de agua (a_w), la cual puede tomar valores entre 0 y 1 y es igual a la humedad relativa en equilibrio dividida entre 100 (Sauer, 1992). La actividad de agua es la relación de la presión parcial del vapor de agua en equilibrio con el sustrato y la presión parcial del vapor de agua en equilibrio con el agua pura a la misma temperatura; es una medida de la cantidad de agua disponible en un producto o sustrato, capaz de permitir el crecimiento de los microorganismos (Moreno, 1988).

En el Cuadro 15 se muestra la actividad de agua mínima requerida para el desarrollo de diversos mohos.

Cuadro 15. Mínima a_w requerida para el desarrollo de diversos mohos.

Especie	a_w mínima requerida
<i>Aspergillus chevalieri</i>	0.65
<i>Aspergillus restrictus</i>	0.70- 0.75
<i>Aspergillus candidus</i>	0.72
<i>Aspergillus versicolor</i>	0.75
<i>Aspergillus flavus</i>	0.80
<i>Aspergillus niger</i>	0.85
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0.78
<i>Penicillium citrinum</i>	0.80
<i>Penicillium islandicum</i>	0.83
<i>Penicillium purpurogenum</i>	0.84
<i>Fusarium spp.</i>	0.88- 0.91
<i>Rhizopus y Mucor spp.</i>	0.92- 0.94

Fuente: Sauer, 1992.

III. JUSTIFICACIÓN

Las plagas y enfermedades constituyen la principal limitante en la producción agrícola. Cada año, una tercera parte de la producción de alimentos debe destruirse, por la presencia de éstas en cultivos y granos almacenados. Todos estos problemas de pre y poscosecha, originan fuertes pérdidas económicas, tanto al productor como al comercio de granos y semillas; así como al usuario final.

Por lo anterior se consideró necesario emplear ciertos aceites esenciales y determinar su efecto antifúngico como una alternativa que reduzca el deterioro de los granos utilizados como materia prima en la elaboración de diversos alimentos y bebidas; así como su posible uso como conservadores y/o aditivos.

IV. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad antifúngica de diferentes aceites esenciales sobre el crecimiento micelial de especies correspondientes al género *Fusarium* y *Penicillium* causantes del deterioro de granos, semillas y materia prima utilizados para la industria de alimentos.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

4.2.1 Aislamiento e identificación de cepas de *Penicillium* presentes en nuez pecanera empacada y a granel de diferentes marcas comerciales en el Municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

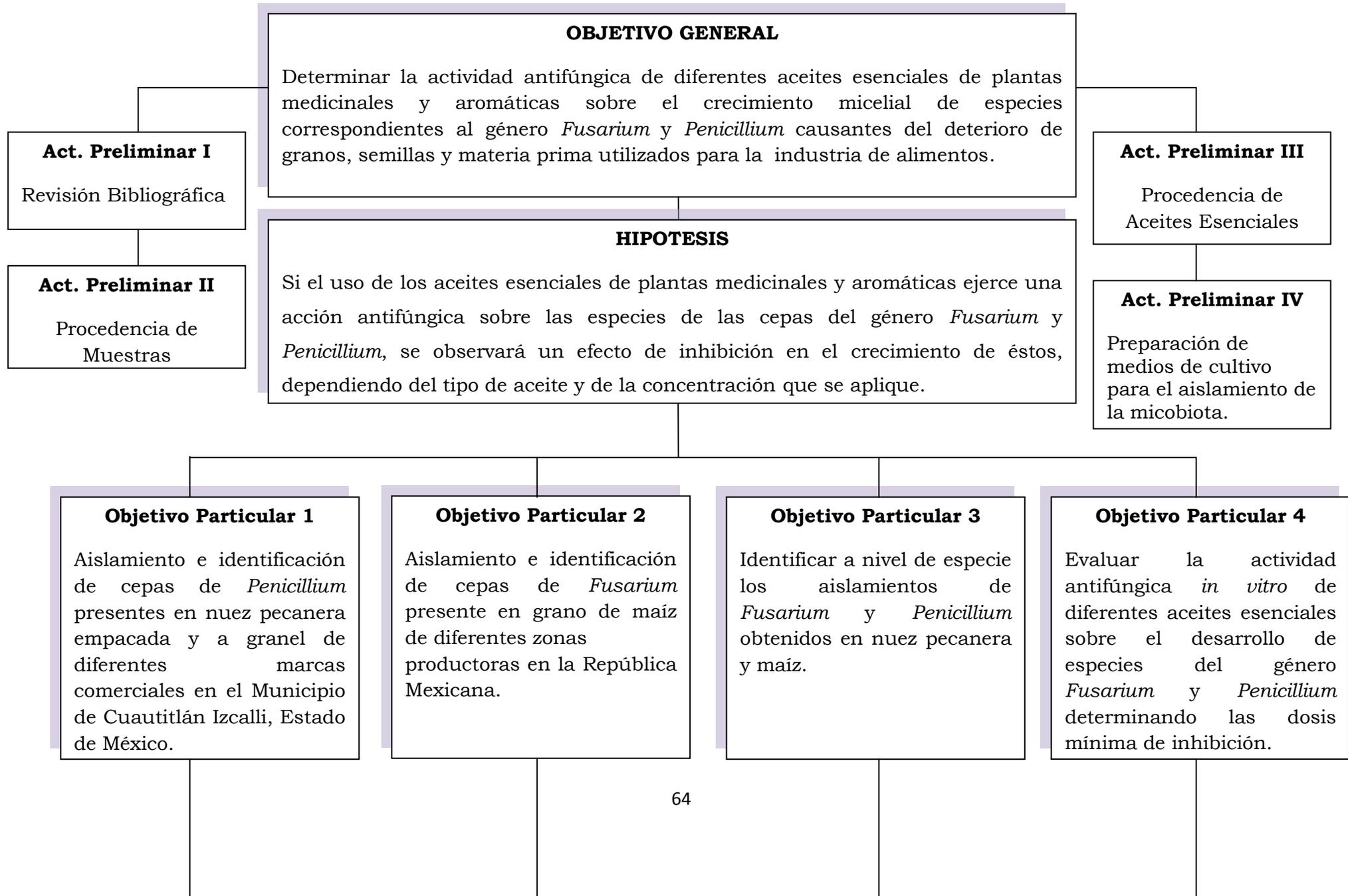
4.2.2 Aislamiento e identificación de cepas de *Fusarium* presente en grano de maíz de diferentes zonas productoras en la República Mexicana.

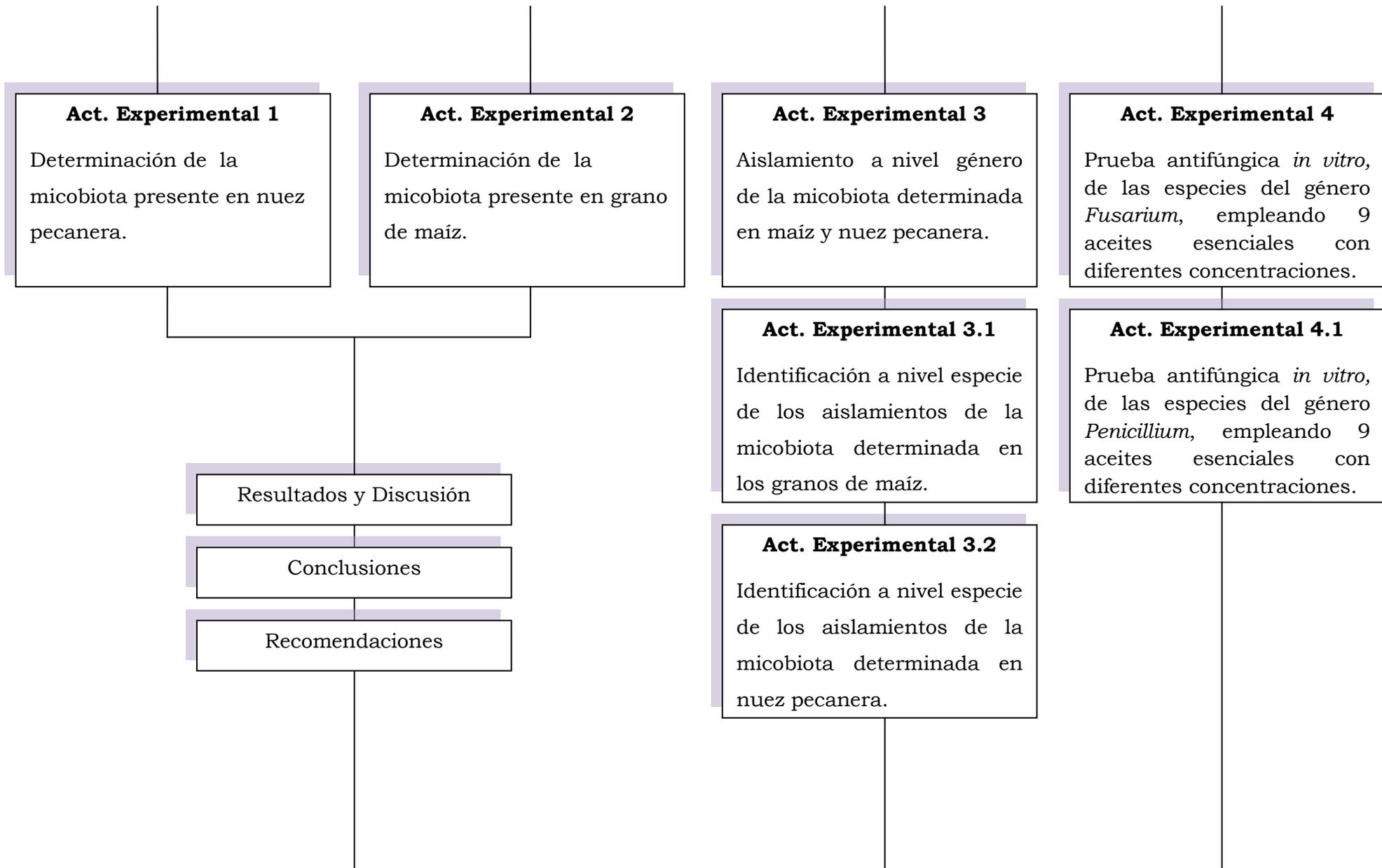
- 4.2.3 Identificar a nivel de especie los aislamientos de *Fusarium* y *Penicillium* obtenidos en nuez y maíz.
- 4.2.4 Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de diferentes aceites esenciales, sobre el desarrollo de especies del género *Fusarium* y *Penicillium* determinando las dosis mínima de inhibición.

V.HIPÓTESIS

Si el uso de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas ejerce una acción antifúngica sobre las especies de las cepas del género *Fusarium* y *Penicillium*, se observará un efecto de inhibición en el crecimiento de éstos, dependiendo del tipo de aceite y de la concentración que se aplique.

VI. CUADRO METODOLÓGICO





VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 DESARROLLO EXPERIMENTAL

7.1.1 Actividades Preliminares

➤ Procedencia de las muestras

Nuez Pecanera (*C. illinoensis*)

Para el aislamiento de cepas de *Penicillium* se utilizó nuez pecanera empacada y a granel de siete muestras comerciales adquiridas en centros de distribución del Municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México debido a que en un estudio previo (García, *et al* 2006) se determinó una alta frecuencia de cepas de este género.

Maíz (*Z. mays*)

El aislamiento de cepas de *Fusarium* se realizó de grano de maíz de diferentes zonas productoras de la República Mexicana (Campeche, Chiapas, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Tlaxcala y Zacatecas) ya que este género cuenta con una amplia distribución.

Estos granos de maíz, fueron proporcionados por el Desarrollo de Empresas e Iniciativas Rurales S.C de Texcoco, Estado de México y se presentan en el Cuadro 16.

Cuadro 16. Procedencia de las muestras de maíz.

Muestra	Origen
01,02 y 03	Michoacán
04,05,06 y 07	Guanajuato
08	Tlaxcala
09,10 y 11	Zacatecas
12 y 13	Campeche
14	Guerrero
15	Nayarit
16,17,18,19,20 y 21	Chiapas
22	Chihuahua
23 y 24	Durango

➤ **Procedencia de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales (ajo, anís, canela, cebolla, cilantro, clavo, menta, orégano y tomillo) fueron obtenidos en la compañía Aceites y Esencias S.A. (grado alimenticio), los cuales se utilizan en la industria farmacéutica, alimentos y confitería.

7.1.2 Actividades de la Fase Experimental

➤ Determinación de la Micobiota presente en grano de Maíz y Nuez pecanera

Para la identificación de los hongos presentes en los granos de maíz y nuez pecanera a nivel género, se utilizó la técnica de siembra en placas de papa-dextrosa-agar (PDA), para el aislamiento de hongos de campo, y en placas de malta-sal-agar (MSA), para el aislamiento de hongos de almacén. Se hicieron 3 repeticiones por cada una de las muestras.

Los granos fueron desinfectados superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante un minuto con el fin de eliminar bacterias y microorganismos, procediendo enseguida al secado del grano en toallas de papel previamente esterilizadas, posteriormente, en un medio estéril, se sembraron 50 granos de maíz en placas de malta- sal- agar (MSA) y 50 granos de maíz en placas de papa- dextrosa-agar (PDA) de las 24 muestras, obteniendo así un total de 100 granos de maíz por cada muestra.

Para la nuez pecanera se sembraron 18 nueces en placas de malta- sal-agar (MSA) y 18 nueces en placas de papa- dextrosa-agar (PDA) de las 7 marcas comerciales empacadas y a granel del Municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Por último las muestras se sometieron a incubación a una temperatura de 25 °C por un periodo de 7 días, después de los cuales se aislaron e identificaron los hongos presentes en el grano de maíz y nuez pecanera a nivel de género.

➤ **Aislamiento a nivel género de la microbiota determinada en maíz y nuez pecanera**

De la microbiota obtenida se aislaron las cepas del género *Fusarium* y *Penicillium* tomando una pequeña muestra del hongo con una aguja estéril y transfiriéndolo a placas de papa-dextrosa-agar (PDA) y Czapek, realizando 3 repeticiones por cada género de hongo determinado, finalmente se sometieron a incubación por un período de 7 días a 25 °C para obtener cultivos axénicos y así posteriormente identificar las cepas a nivel de especie.

➤ **Identificación a nivel especie de los aislamientos de la microbiota determinada en maíz**

De los cultivos axénicos que se obtuvieron del género *Fusarium* de la microbiota presente en las 24 muestras de maíz, se hicieron preparaciones, colocando una pequeña muestra del hongo en un portaobjetos, posteriormente se agregaron dos gotas de lactofenol con azul de algodón en las muestras y se cubrieron con un cubreobjetos, a continuación se observaron dichas preparaciones en el microscopio compuesto y se caracterizaron e identificaron las especies del género *Fusarium* con el uso de claves especializadas CIMMYT (Warham, *et al.*, 1994) y el libro “*Fusarium Species*” (Marasas, *et al.*, 2001).

➤ **Identificación a nivel especie de los aislamientos de la microbiota determinada en nuez pecanera**

Con la finalidad de identificar las especies del género *Penicillium* que se presentaron en la microbiota obtenida de nuez pecanera, se colocó una pequeña porción de estas cepas en viales con agar tween 80, posteriormente se homogenizaron en un vortex dichos viales y se tomó una alícuota de 0.5µl para sembrar las cepas en tres puntos diferentes (Fig. 17) de los siguientes medios de cultivo: EMA, CYA y G_{25n}; estos medios de cultivo se utilizaron para cada una de las cepas de *Penicillium* (Anexo 3).

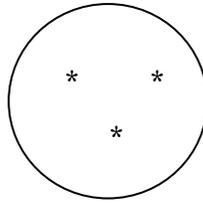


Fig. 17. Distribución de cepas de *Penicillium* en cajas Petri.

Posteriormente, se incubaron las cajas por siete días a la temperatura correspondiente: EMA y G_{25n} a 25 °C, CYA a 25 °C, 37 °C, y a 5 °C.

Una vez transcurridos los siete días de incubación se observaron las características de la macromorfología de las colonias de *Penicillium* (color, tamaño, textura, etc.), y con las colonias que crecieron en los medios de cultivo EMA, se hicieron preparaciones para identificarlas micromorfológicamente y así finalmente siguiendo las claves especializadas del libro “*Genus Penicillium*” (Pitt, 1980) se pudieron identificar las especies de este género.

➤ **Prueba de actividad antifúngica “*in vitro*”**

Con la finalidad de evaluar la actividad antifúngica de nueve aceites esenciales sobre el crecimiento micelial de las especies del género *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. graminearum* y *F. moniliforme*) y del género *Penicillium* (*P. funiculosum*, *P. janthinelum*, *P. olsonni*, y *P. oxalicum*) se realizó una prueba *in vitro* con placas de papa-dextrosa-agar (PDA) y aceites esenciales. Los aceites esenciales que se emplearon fueron: ajo, anís, canela, cebolla, cilantro, clavo, menta, orégano y tomillo, los cuales se mezclaron en la concentración deseada con el medio de cultivo de PDA semisólido previamente esterilizado (t=20 min, P=1.5 Kg/cm²) obteniendo siete concentraciones diferentes: 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.25, 0.35, 0.45%. Los medios con los aceites esenciales se vertieron en cajas de Petri estériles (Anexo 2) (Soliman y Badeaa, 2002).

1. Siembra de *F. oxysporum*, *F. graminearum* y *F. moniliforme* en medios de cultivo con aceites esenciales.

Con ayuda de un sacabocados ($d=4$ mm) se sembraron explantes discoidales de las especies de *Fusarium*, en el centro de los medios de cultivo con aceites esenciales y las diferentes concentraciones probadas.

Posteriormente, las cajas de Petri con los tratamientos, se incubaron por un período de 15 días midiendo con un vernier dos diámetros perpendiculares de la colonia sacando un promedio del crecimiento cada 72 horas. Se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento más un testigo con inóculo sin tratamiento para cada uno de los aceites y dosis probadas en este estudio (Soliman y Badeaa, 2002).

2. Siembra de *P. funiculosum*, *P. janthinelum*, *P. olsonni*, y *P. oxalicum* en medios de cultivo con aceites esenciales.

Se tomó una pequeña muestra de cada una de las especies del género *Penicillium* colocándolas en viales con tween 80 agar; una vez homogeneizados dichos viales se tomó una alícuota de $0.4 \mu\text{l}$ de la suspensión de esporas y se sembraron en el centro de las placas de agar PDA con los diferentes aceites esenciales (Klich, 2002).

Posteriormente, se incubaron por un período de 15 días, midiendo con un vernier dos diámetros perpendiculares de la colonia, sacando un promedio del crecimiento cada 72 horas. Se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento más un testigo con inóculo sin tratamiento para cada uno de los aceites y dosis probadas en este estudio.

➤ Determinación del efecto Fungicida y Fungistático

Para determinar el efecto fungicida y fungistático de los aceites esenciales, se transfirieron explantes discoidales de las especies de *Fusarium* y *Penicillium*, que no presentaron crecimiento micelial en los tratamientos probados, a

medios de cultivo de PDA libres de aceites esenciales; dichas placas de agar fueron incubadas a una temperatura de 25 °C durante 15 días y posteriormente se evaluó el desarrollo de las colonias, considerando un efecto fungicida en aquéllos que no presentaron crecimiento del hongo y fungistático para los que si lo presentaron (Soliman y Badeaa, 2002).

VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Los resultados obtenidos de la prueba de actividad antifúngica *in vitro* se analizaron bajo un diseño factorial completamente al azar. Las medias obtenidas se sometieron a una comparación estadística de Tukey ($p < 0.05$) en el paquete SAS, versión 9 (2002).
- La frecuencia y densidad relativa de los aislamientos de la microbiota presente en maíz y nuez pecanera se obtuvieron mediante un análisis estadístico aplicando las siguientes ecuaciones (Marasas *et al.*, 1984):

$$FR = \left(\frac{a}{b}\right) * 100$$

Donde:

FR= Frecuencia relativa.

a= número de muestras con presencia de cada uno de los géneros y/o especies aisladas.

b= número total de muestras analizadas.

$$DR = \left(\frac{c}{d}\right) * 100$$

Donde:

DR= Densidad relativa.

c= número de hongos presentes en la muestra.

d= número total de hongos aislados.

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Determinación de la microbiota presente en grano de maíz.

En las pruebas de determinación de la microbiota presente en las 24 muestras de granos de maíz, realizadas en medio de cultivo PDA se encontró que el género que predominó fue *Fusarium* con una frecuencia del 96% (Fig.18) correspondiendo a un total de 121 aislamientos (Cuadro 17). Otros hongos determinados en este medio, con menor frecuencia fueron, por orden de importancia: *A. restrictus* con 37.5% aislando 16 colonias, esta misma frecuencia se obtuvo para el género *Penicillium* de donde se aislaron 19 colonias. En *Eurotium* la frecuencia fue menor (25%) aislando tan solo 14 colonias, seguido de la presencia de 13 colonias de bacterias con el 30% de frecuencia en dichos granos (Fig. 18).

En el medio de cultivo MSA, también, se encontró que el género que predominó fue *Fusarium* con una frecuencia del 87.5% (Fig.19) obteniendo un total de 91 colonias aisladas en las 24 muestras analizadas (Cuadro 18). En cuanto a los demás hongos se encontró la especie *A. restrictus* con 53 colonias que representa una frecuencia del 46%, *Eurotium* con 19 colonias y una frecuencia del 29%, *Penicillium* con 8 colonias determinadas representando una frecuencia del 12.5% y finalmente una colonia de bacterias con una frecuencia del 4% (Fig. 19).

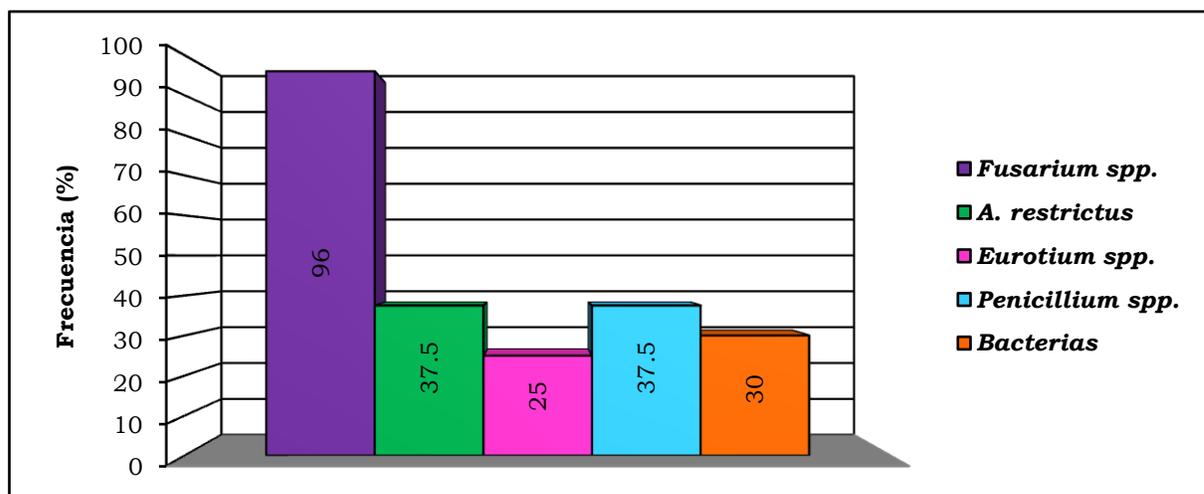


Fig. 18 Frecuencia de la microbiota presente en 24 muestras de grano de maíz en PDA.

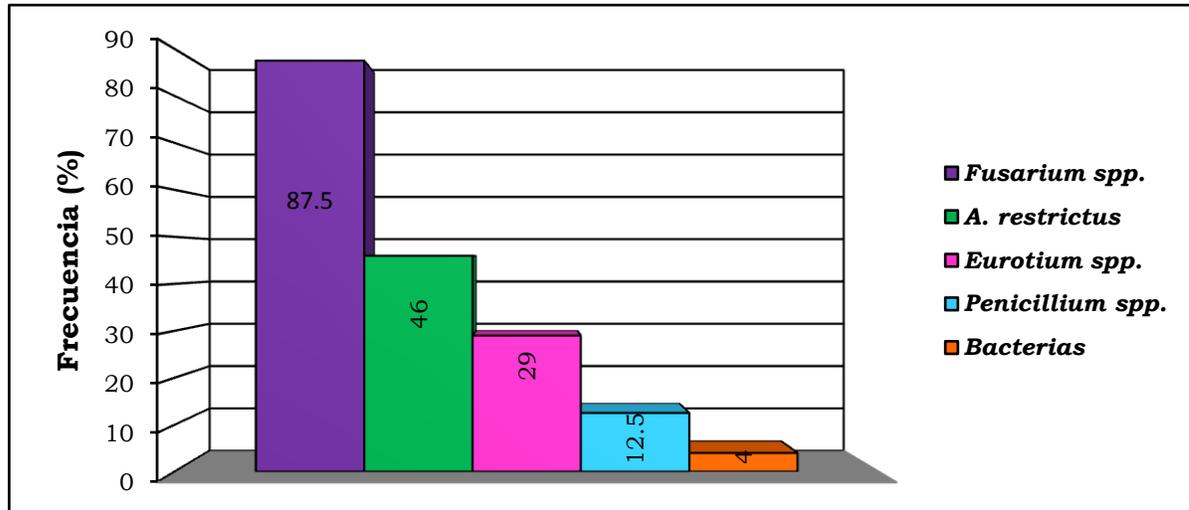


Fig. 19 Frecuencia de la microbiota presente en 24 muestras de grano de maíz en MSA.

En el Cuadro 17 se presentan los resultados obtenidos de la microbiota presente de cada una de las 24 muestras analizadas de grano de maíz, encontrando en el medio de cultivo PDA que la muestra 16 de procedencia Chiapaneca presentó el mayor número de colonias del género *Fusarium* obteniendo 22 aislamientos y una densidad relativa del 18%. Otras muestras analizadas que también presentaron un número elevado de colonias del género *Fusarium* fueron la muestra 18 de procedencia Chiapaneca y la muestra 22 de Chihuahua, aislando 10 colonias por muestra y representando una densidad relativa de 8.2%. En la muestra 15 se aislaron 8 colonias correspondiendo a una densidad relativa de 6.6%, para la muestra 6 se obtuvo un aislamiento de 7 colonias representando así una densidad relativa del 5.7% (Cuadro 17). De las muestras 2, 9 y 11 se aislaron el mismo número de colonias de *Fusarium* (seis) obteniendo así el 5% de densidad relativa, mientras que en la muestra 3, 17 y 19 se obtuvieron 5 colonias representando el 4.1% de la densidad relativa de colonias aisladas y en las muestras 4, 5, 12 y 20 se aislaron un total de 4 colonias por muestra con un 3.3% de densidad relativa.

Por otra parte, las muestras que presentaron un número menor de aislamientos de este género fueron la 1, 13, 14, 21 y 24 con solo 2 colonias

presentes en cada muestra y una densidad relativa de 1.6%, seguido de las muestras 8, de Tlaxcala y 23 de Durango que presentaron tan solo una colonia de *Fusarium* y con ello una densidad del 0.8% en 50 granos de maíz sembrados en placas de PDA, lo que significa que este género tiene una amplia distribución y sus especies van a depender de la región geográfica y condiciones climáticas que prevalezcan en la zona donde se cultive el maíz; algunas especies de *Fusarium*, son responsables de pudriciones de tallo, tizón en las plántulas y pudriciones de mazorca en el campo (De León, 1984). Requiere que el grano contenga un nivel de humedad demasiado alto (24-25 %) para poder desarrollarse (Agrios, 1998) sin embargo, la presencia principalmente de hongos de campo como *Fusarium* también nos indica que el grano es de recién cosecha o que fue almacenado bajo condiciones adecuadas las cuales no permitieron el desarrollo de hongos de almacén (Moreno, 1988).

Por otro lado *Fusarium* además de causar deterioro en el grano, (manchado, muerte del embrión y pérdida de peso), algunas especies producen micotoxinas que representan un riesgo para la salud humana y animal, además de ocasionar fuertes pérdidas económicas en la industria de alimentos. Este género, cómo ya se mencionó, contamina a los cereales en el campo y posteriormente cuando éstos son sometidos a procesos de secado y otros manejos, el moho puede morir y no obstante las micotoxinas que producen algunas especies permanecen en el sustrato de manera que su control es de gran importancia (Ericksen y Alexander, 1998).

Otros hongos determinados en PDA con un menor número de aislamientos y que presentan una baja densidad relativa, fueron *A. restrictus* con un total de 16 colonias, *Eurotium spp.* con 14 colonias y *Penicillium spp.* con 19, seguido de la presencia de 13 colonias de bacterias en dichos granos (Cuadro 17). Agentes causantes de deterioro de los granos, después de la cosecha, durante su almacenamiento y transporte (Agrios, 1998).

Cuadro 17. Microbiota presente en granos de maíz en medio de cultivo PDA.

Muestra	N° de Colonias presentes por muestra									
	<i>Fusarium</i>		<i>A.restrictus</i>		<i>Eurotium</i>		<i>Penicillium</i>		Bacterias	
	a*	b*	a	b	a	b	a	b	a	b
01	2	1.65	0	0	0	0	0	0	0	0
02	6	5	1	6.25	0	0	2	10.5	0	0
03	5	4.1	2	12.5	0	0	0	0	0	0
04	4	3.3	1	6.25	0	0	0	0	1	7.6
05	4	3.3	0	0	1	7.1	0	0	0	0
06	7	5.7	0	0	0	0	3	15.7	1	7.6
07	3	2.4	0	0	0	0	1	5.2	1	7.6
08	1	0.8	2	12.5	0	0	0	0	0	0
09	6	5	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	6	42.8	0	0	0	0
11	6	5	0	0	0	0	0	0	4	30.7
12	4	3.3	2	12.5	3	21.4	1	5.2	0	0
13	2	1.6	0	0	0	0	0	0	2	15.3
14	2	1.6	2	12.5	1	7.1	0	0	3	23
15	8	6.6	0	0	0	0	0	0	0	0
16	22	18	0	0	0	0	3	15.7	0	0
17	5	4.1	0	0	0	0	0	0	0	0
18	10	8.2	1	6.25	0	0	4	21	0	0
19	5	4.1	1	6.25	2	14.2	1	5.2	0	0
20	4	3.3	4	25	0	0	3	15.7	0	0
21	2	1.6	0	0	1	7.1	1	5.2	1	7.6
22	10	8.2	0	0	0	0	0	0	0	0
23	1	0.8	0	0	0	0	0	0	0	0
24	2	1.6	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	121		16		14		19		13	
Aislamientos										

a*= número de aislamientos; b*= densidad relativa.

Sin embargo, al analizar éstas mismas muestras en el medio de cultivo MSA se encontró que las muestras 6, 8, 10, 12, 14 y 21 presentaron un mayor número de aislamientos y densidad relativa de hongos de almacén (Cuadro 18) correspondiendo principalmente a la especie *Aspergillus restrictus* y a los géneros *Eurotium spp.* y *Penicillium spp.*, lo cual nos indica que estas muestras ya habían sido sometidas a un período de almacenamiento en condiciones favorables para el desarrollo de estos hongos.

El hongo *A. restrictus* es considerado como una de las especies más xerófilas que invaden a los granos y semillas, ya que para su desarrollo requiere de una a_w menor de 0.70, presenta un crecimiento muy lento y requiere en los granos de maíz contenidos de humedad del 14-15%. No es productor de micotoxinas, sin embargo afecta la germinación de las semillas (Lacey, 1994 y Moreno, 1988).

La muestra que presentó mayor incidencia de esta especie fue la 8 con 14 aislamientos representando una densidad relativa del 26.4%. Otra de las muestras analizadas que también mostró un elevado número de aislamientos fue la muestra 6 de donde se determinaron 9 colonias y una densidad relativa de 9.4% de *A. restrictus*, en las muestras restantes no se observó la presencia de este hongo.

Otro hongo de almacén determinado con menor número de aislamientos y menor densidad relativa fue *Eurotium*, las muestras que presentaron un mayor desarrollo de este género fueron la 14 y la 10, aislando en la primera muestra 8 colonias representando el 42.1% de densidad relativa y para la segunda muestra se aislaron 3 colonias obteniendo así un 15.7 % de la densidad relativa. La muestra que obtuvo menor presencia de este género fue la 21 con un aislamiento correspondiendo a un 5.2% de densidad relativa.

El género *Eurotium* es el estado perfecto de las especies del grupo *Aspergillus glaucus*, son característicamente xérofilas y requieren para su desarrollo entre 0.75-0.78 a_w (Lacey y Magan, 1991). Estos hongos imparten colores y olores desagradables a los granos y afectan la germinación de las semillas (Moreno, 1988).

El género *Penicillium* fue aislado de las muestras 8, 10 y 12 con 1, 5 y 2 colonias respectivamente, presentando una baja densidad relativa (12.5%, 62.5% y 25%), ciertas especies de este género son consideradas como hongos toxígenos, capaces de producir diversas micotoxinas, además de causar deterioro de los granos (Moreno, 1988).

Se ha encontrado que a temperaturas bajas o ventilación con aire acondicionado aumenta la presencia de especies de *Penicillium*, especialmente si se presenta una alta a_w (Lacey, 1994).

Cuadro 18. Microbiota presente en granos de maíz en medio de cultivo MSA.

Muestra	N° de Colonias presentes por muestra									
	<i>Fusarium</i>		<i>A. restrictus</i>		<i>Eurotium</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Bacterias</i>	
	a*	b*	a	b	a	b	a	b	a	b
01	4	4.3	1	1.8	0	0	0	0	1	100
02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
03	1	1.09	0	0	0	0	0	0	0	0
04	2	2.1	0	0	0	0	0	0	0	0
05	2	2.1	0	0	0	0	0	0	0	0
06	3	3.2	9	17	0	0	0	0	0	0
07	1	1.09	0	0	2	10.5	0	0	0	0
08	1	1.09	14	26.4	0	0	1	12.5	0	0
09	7	7.6	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	5	9.4	3	15.7	5	62.5	0	0
11	6	6.5	0	0	0	0	0	0	0	0
12	1	1.09	3	5.6	3	15.7	2	25	0	0
13	3	3.2	0	0	0	0	0	0	0	0
14	3	3.2	6	11.3	8	42.1	0	0	0	0
15	4	4.3	0	0	0	0	0	0	0	0
16	9	9.8	3	5.6	0	0	0	0	0	0
17	2	2.1	0	0	1	5.2	0	0	0	0
18	8	8.7	0	0	0	0	0	0	0	0
19	6	6.5	0	0	0	0	0	0	0	0
20	12	13.1	1	1.8	0	0	0	0	0	0
21	0	0	6	11.3	1	5.2	0	0	0	0
22	10	10.9	3	5.6	0	0	0	0	0	0
23	3	3.2	2	3.7	0	0	0	0	0	0
24	3	3.2	0	0	1	5.2	0	0	0	0
Total	91		53		19		8		1	
Aislamientos										

a*= número de aislamientos; b*= densidad relativa.

9.2 Identificación de *Fusarium* a nivel de especie

Los resultados obtenidos en la identificación de especies del género *Fusarium* de los aislamientos de la microbiota presente en los granos de maíz en el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) muestran que la especie más abundante con un total de 86 colonias fue *F. moniliforme* (estado perfecto *Gibberella fujikuroi*), otras especies identificadas con un número menor de aislamientos fueron *F. graminearum* (estado perfecto *Gibberella zeae*) con 25 colonias y *F. oxysporum* que presentó tan solo 10 colonias (Cuadro 19).

En los aislamientos del medio de cultivo malta-sal-agar (MSA) la especie de *F. moniliforme* sigue siendo la más abundante ya que presentó un total de 54 colonias en los granos de maíz, seguida de la especie *F. oxysporum* de donde se obtuvieron 31 colonias y en menor proporción se encuentra la especie de *F. graminearum* con un total de 6 colonias presentes (Cuadro 20).

Por lo tanto se puede demostrar que la especie que predominó en los granos de maíz fue sin duda *F. moniliforme*; estos resultados son similares a los encontrados por Fandohan, *et al.*, 2005, en un estudio realizado en maíz en precosecha y almacenado en Benin, oeste de África, aislando un 68% de cepas de *F. moniliforme* (*F. verticillioides*), además de esta especie encontraron *Fusarium proliferatum* (31%).

Moreno (1988) menciona que *F. moniliforme* es un hongo muy común que se aísla fácilmente de estos granos, infectando sus tallos y llegando hasta la base de éstos produciendo la pudrición de las mazorcas. Posiblemente es el patógeno más común de la mazorca del maíz en todo el mundo, tanto en ambientes calientes y húmedos, como en ambientes secos. Los granos infectados pueden germinar estando aún en la mazorca (germinación prematura). Cuando la infección es tardía, los granos muestran rayas en el pericarpio. Las mazorcas invadidas por barrenadores del tallo o gusano elotero generalmente son infectadas (De León, 1984). Esta especie, productora de varias micotoxinas, entre ellas zearalenona, que es

débilmente fitotóxica, produce efectos estrogénicos y abortivos en varios animales. Los cerdos alimentados principalmente con mazorcas invadidas por este moho son los animales domésticos más susceptibles a ésta toxina. En ciertas dosis se ha demostrado que dicha toxina es mortal para animales de laboratorio (Edwards *et al.*, 2002; Herrera y Ulloa, 1990). Otra micotoxina producida por ésta especie es la moniliformina que también tiene efectos fitotóxicos y es considerada particularmente importante, porque produce hemorragias gastrointestinales (Coel y Cox, 1981). Las fumonisinas son un grupo de micotoxinas que también son sintetizadas por esta especie, responsables de la leucoencefalomacia en caballos y el síndrome del edema pulmonar en cerdos y se han asociado con la incidencia de cáncer de esófago en humano (Desjardins y Proctorl 2001; Miller y Trenholm, 1994).

En este estudio los granos de maíz procedentes de Chiapas, Zacatecas, Michoacán, Guanajuato y Chihuahua obtuvieron un mayor índice de aislamientos, sin embargo en los granos procedentes de Campeche, Nayarit, Durango, Guerrero y Tlaxcala se reportaron aislamientos en menor cantidad, posiblemente esto se debió a las condiciones climáticas que prevalecieron en las zonas analizadas.

Otro hongo de campo que se identificó en los granos de maíz fue *Fusarium graminearum* que tiene una distribución en todo el mundo, es más común en áreas frescas y húmedas. Este es uno de los agentes de pudrición de tallo potencialmente más dañino. En las mazorcas causa pudriciones y produce un color rojizo y rosado de los granos infectados, comenzando con los de la punta de la mazorca (De León, 1984). También es productor de zearalenona, así como de tricotecenos que se caracterizan por alteraciones gastrointestinales como diarrea, náusea, vómito, rechazo al alimento y síndrome hemorrágico (Llorens *et al.*, 2004).

En este estudio el estado en donde se encontró un mayor número de aislamientos fue en Chiapas, seguido de Chihuahua, Nayarit y Guanajuato; en menor proporción se encontró en Michoacán, Zacatecas, Campeche, y Durango (Cuadro 19 y 20).

Otra especie identificada en las muestras de maíz analizadas fue *F. oxysporum*, se presenta en todo tipo de región, principalmente en zonas templadas o tropicales (Warham *et al.*, 1994). En este trabajo predominó en las zonas de Chiapas, Guanajuato, Zacatecas, Nayarit, Durango, Tlaxcala y Chihuahua (Cuadro 19 y 20), es una especie que causa marchitamiento en plantas, además de ser productora de micotoxinas como la moniliformina considerada cardiotoxica (Edwards *et al.* 2002).

Cuadro 19. Identificación de las especies de *Fusarium* en medio PDA de las 24 muestras de granos de maíz.

Especie	*Muestra	No. de aislamientos
<i>F. graminearum</i>	02, 06, 07, 11, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22 y 23	25
<i>F. moniliforme</i>	01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22 y 24	86
<i>F. oxysporum</i>	04, 05, 06, 09, 11, 21 y 24	10
Total Aislamientos		121

*Cada una de las muestras analizadas corresponde a 50 granos de maíz.

Cuadro 20. Identificación de las especies de *Fusarium* en medio MSA de las 24 muestras de granos de maíz.

Especies	*Muestras	No. de aislamientos
<i>F. graminearum</i>	20 y 22	6
<i>F. moniliforme</i>	01, 05, 06, 07, 09, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 22, 23 y 24	54
<i>F. oxysporum</i>	03, 04, 05, 06, 08, 09, 15, 16, 18, 19, 20, 22 y 24	31
Total Aislamientos		91

*Cada una de las muestras analizadas corresponde a 50 granos de maíz.

En los cuadros 21, 22 y 23 se describen las características morfológicas consideradas para la identificación de las especies de *Fusarium* aisladas de las 24 muestras de maíz procedentes de diferentes estados de la República Mexicana.

Cuadro 21. Características de la macromorfología y micromorfología de *Fusarium graminearum* aislado de granos de maíz (Warham *et al*, 1994).

Especie	Conidios	Conidióforo	Clamidosporas	Estado perfecto	Morfología de la colonia	Características distintivas
<p>Sección DISCOLOR <i>F.graminearum</i>, Schwabe & Hans.</p>  <p>100 x</p>	<p>Microconidios ausentes. Los macroconidios son septados con la pared celular gruesa, con 3-7 septos con una célula basal en forma de pie, la célula apical en forma de cono. La superficie ventral es menos curvada que la superficie dorsal.</p>	<p>Simple; las monofiálides son ramificadas</p>	<p>Generalmente se forman muy lento en el medio de cultivo. Cuando éstas se presentan están insertadas a intervalos a lo largo de las hifas y son esféricas, con una pared interior lisa o ligeramente rugosa, hialinas o de color café pálido, aisladas en cadenas o grupos. Se forman con más frecuencia en los macroconidios pero también pueden observarse en el micelio.</p>	<p><i>Gibberella zeae</i> (Schw.) Petch</p>	<p>Crecimiento rápido en PDA con micelio aéreo abundante, el cual es frecuentemente amarillo a marrón con los márgenes blancos a rojo carmín. Puede presentar esporodocios de color rojo marrón a anaranjado, los cuales cuando se presentan están esparcidos en el medio principalmente si los cultivos tienen más de 30 días de edad. El reverso de la colonia es usualmente de color rojo carmín.</p>	<p>Los macroconidios son ostensiblemente largos, grandes y con paredes gruesas. Es relativamente estable en el medio del cultivo. Es cosmopolita. Esta reportada como especie toxígena.</p>

Créditos de fotografía: Casimiro-Delgadillo A. P., Olvera-Galván B. y Pérez-Reyes M.C., FES Cuautitlán, UNAM.

Cuadro 22. Características de la macromorfología y micromorfología de *Fusarium moniliforme* aislado de granos de maíz (Warham *et al*, 1994).

Especie	Conidios	Conidióforo	Clamidosporas	Estado perfecto	Morfología de la colonia	Características distintivas
Sección DISCOLOR <i>F. moniliforme</i> , Sheldon	 <p>100x</p>  <p>40x</p> <p>Microconidios abundantes generalmente unicelulares ovoides o en forma de bastón. Los macroconidios son poco frecuentes cuando se presentan, son hialinos, delicados, con paredes delgadas, y su forma varía de curvos a casi rectos; tienen de 3-7 septos y la célula basal tiene forma de pie.</p>	Simple; se presentan solo monofialides ramificadas.	Ausentes	<i>Gibberella fujikuroi</i> (Sawada) Ito	Crecimiento rápido en PDA con micelio blanco, puede presentar una coloración púrpura. Los esporodocios pueden estar presentes o ausentes. Cuando están presentes puede ser de color marrón- amarillo a naranja. Pueden desarrollarse esclerocios de color azul oscuro dando una coloración azul a la colonia cuando son abundantes. El reverso de la colonia varía de incoloro a púrpura oscuro.	Es cosmopolita, saprófito. Esta reportada como especie Toxígena.

Créditos de fotografía: Casimiro-Delgadillo A. P., Olvera-Galván B. y Pérez-Reyes M.C., FES Cuautitlán, UNAM.

Cuadro 23. Características de la macromorfología y micromorfología de *Fusarium oxysporum* aislado de granos de maíz (Warham *etal*, 1994).

Especie	Conidios	Conidióforo	Clamidosporas	Estado perfecto	Morfología de la colonia	Características distintivas
<p>Sección ELEGANS <i>F.oxysporum</i>, Schletch, Emend. Snyd & Hans.</p>  <p>100x</p>	<p>Microconidios abundantes, generalmente unicelulares de forma oval o arriñonada se producen en conidióforos cortos y ramificados Los macroconidios son hialinos, tienen paredes delgadas, son apenas curvos, puntiagudos en ambos extremos, con 3-7 septos, con un ápice en forma de gancho y una célula basal en forma de pie.</p>	<p>Simple; las monofálides son ramificadas y aquella en las cuales se producen los microconidios son cortas.</p>	<p>Son esféricas con paredes lisas o rugosas; se forman individualmente o bien en pares a intervalos a lo largo de las hifas, o en ramificaciones laterales cortas.</p>	<p>No se conoce</p>	<p>Crecimiento rápido en PDA con micelio aéreo abundante, el cual puede teñir de color púrpura el medio de cultivo al invadirlo. Cuando los esporodoquios son abundantes estos son de color crema a marrón o bien de color naranja. El reverso de la colonia puede ser de varios colores que van desde azul oscuro a rojo oscuro.</p>	<p>Presencia de clamidosporas y de microconidios producidos en conidióforos cortos y ramificados. Esta especie cuenta con razas o formas especiales muestran gran diversidad en PDA. Es cosmopolita. Esta reportada como especie toxígena.</p>

Créditos de fotografía: Casimiro-Delgadillo A. P., Olvera-Galván B. y Pérez-Reyes M.C., FES Cuautitlán, UNAM.

9.3 Determinación de la microbiota presente en nuez pecanera.

En cuanto a las pruebas de determinación de hongos presentes en nuez pecanera realizadas en medio de cultivo PDA, se observó que el hongo de mayor incidencia fue el del género *Penicillium* con un total de 31 colonias presentes (Cuadro 24) representando una frecuencia del 71.43% (Fig. 20) del total de los aislamientos realizados. Es importante mencionar que el género *Penicillium* es un hongo que se desarrolla durante el almacenamiento pudiendo causar diversos daños como olores y sabores desagradables en los granos en que crece, además de que puede ocasionar ennegrecimiento del embrión; asimismo algunas especies de éste género son productoras de micotoxinas, por lo que se debe tener sumo cuidado con el manejo de este grano. Moreno (1988), señala que en el caso de los hongos de almacén, la presencia de una determinada especie en el grano, nos señala las condiciones de humedad a las que ha sido almacenada, y por la diversidad y abundancia de estos hongos se puede inferir el cuidado que se ha tenido después de la cosecha de ese grano. Pudiendo deducir que este grano tuvo malas condiciones de almacenamiento ya que, según Sauer (1992) a humedades relativas de 80-85% y con un contenido de humedad de 9-13% hay crecimiento o desarrollo de hongos del género *Penicillium*. Un ejemplo claro de un mal almacenamiento es la muestra 02 que presenta la mayor incidencia de *Penicillium* (Cuadro 24). Otras muestras que también presentaron este género fueron la muestra 01 con 5 aislamientos mostrando una frecuencia relativa de 16%, la muestra 03 con 4 aislamientos (13% de densidad relativa) y las muestras 04 y 05 con 2 aislamientos respectivamente (6.4% de densidad relativa). Otros hongos que se determinaron en este medio con una menor incidencia fueron: *Alternaria* y *Rhizopus* con 7 colonias aisladas y con una frecuencia del 28.57% y del 14.3% respectivamente, *Fusarium* con 5 colonias aisladas y una frecuencia del 42.86%, *A. niger* y *Eurotium* con 3 colonias aisladas cada uno y con una frecuencia del 28.57% y por último *A. flavus* con tan solo 1 colonia aislada y representando una

frecuencia del 14.3% (Cuadro 24 y Fig. 20). La presencia de hongos como *Alternaria* y *Fusarium*, hongos de campo, según Moreno (1988), se pueden inferir dos situaciones: que el grano es recién cosechado, y si no es un grano de recién cosecha, quiere decir que ha sido bien conservado. Un ejemplo de ésta situación es la muestra 06 que al realizar la micobiota de este grano se obtuvo que solo presenta un aislamiento de *Alternaria* pudiendo decir así que es una nuez que ha sido conservada en buenas condiciones. El desarrollo de hongos de campo bajo condiciones de almacenamiento, es significado de que no hubo buenas prácticas y condiciones adecuadas de humedad y temperatura en el almacén. Estos microorganismos se pueden desarrollar y afectar al grano, es decir, que causarían el deterioro del grano; así como también se puede favorecer el desarrollo de micotoxinas, lo cual afectaría no solo la calidad del grano sino que también representaría un riesgo para el consumo humano y animal. Así mismo, la presencia de *Eurotium* y *A. flavus* nos indican un mal almacenamiento, debido a que estos hongos pueden crecer en humedades relativas de 65-90%, condiciones de humedad muy frecuentes en el almacenamiento de granos. Sin embargo, se ha encontrado que lagunas de estas especies pueden invadir el grano desde el campo, especialmente cuando las condiciones ambientales favorecen su desarrollo.

A.niger y *Rhizopus* son considerados como hongos de deterioro avanzado los cuales pueden invadir los granos y productos que han estado bajo muy malas condiciones de almacenamiento, las que en ocasiones se inician también desde el campo. Estos hongos se desarrollan en productos almacenados en altas humedades relativas superior al 90%.

Moreno (1988) recalca que son granos que se han almacenada a muy altos contenidos de humedad y que otros hongos han antecedido a la sucesión microbiana. Indican una mala calidad en la materia prima, la cual debería ser considerada con las máximas precauciones para su posible utilización en la alimentación humana y animal. Este tipo de hongos se pueden observar en las muestras 01, 03 y 04, encontrando que estos granos son de pésima calidad.

También en las pruebas de determinación de la microbiota presente en medio de cultivo MSA (Cuadro 25 y Fig. 21), se encontró que el género que predominó fue *Penicillium* con un total de 28 colonias aisladas obteniendo una frecuencia del 57.14%, en cuanto a los demás hongos se encontró *Fusarium* con 11 colonias que representa una frecuencia del 28.57%, *A. niger* con 4 colonias representando una frecuencia del 28.57%, *Alternaria* y *Eurotium* con 3 colonias determinadas representando una frecuencia del 42.86% y 28.57%, respectivamente, *A. flavus* con 2 colonias y una frecuencia del 28.57% y finalmente con una colonia aislada *Rhizopus* con una frecuencia del 14.3%.

Es importante señalar que de las 7 muestras analizadas, la muestra 02 fue la que presentó un número elevado de colonias del género *Penicillium* en ambos medios de cultivo obteniendo 18 aislamientos, representando una densidad relativa del 58% (Cuadro 24), al igual que en el medio de cultivo MSA (Cuadro 25), en donde también se obtuvo un mayor índice de colonias de este género, presentando una densidad relativa del 64.3% con 18 colonias aisladas. En cuanto al género *Fusarium* en PDA las muestras 01 y 04 presentaron 2 colonias representando una densidad relativa del 40%, asimismo, para MSA continuó presentando la muestra 04 el mayor número de colonias aisladas mostrando una densidad relativa del 73%, estos resultados coinciden con lo encontrado por Peterson (2005) en donde determinaron la presencia de hongos patógenos más frecuentes en el nogal pecanero reportando al género *Fusarium*; para *A. niger* en PDA la muestra que presentó mayor número de aislamientos fue la 03 con una densidad relativa del 67%, en tanto que para MSA la muestra 04 fue la que mostró la mayor densidad relativa (75%); para la especie de *A. flavus* la muestra que tuvo mayor incidencia fue la 04 con una densidad relativa del 100% para el medio de cultivo PDA, al igual que para MSA con una densidad del 50%, aunque *A. flavus* ha sido encontrado en nuez pecanera como una contaminación interna durante la cosecha (Beuchat, 1975) y en el

almacenamiento de la almendra (Doupnik y Bell, 1971). En este trabajo la presencia fue numéricamente baja. Es importante señalar que las aflatoxinas producidas por esta especie pueden estar presentes en las muestras analizadas, aunque el hongo no se haya detectado. La muestra 01 en PDA obtuvo la mayor densidad relativa (80%) para el género de *Alternaria* y las muestras 01,03 y 06 con una densidad del 33.3% para MSA. El género *Alternaria* ha sido citado como patógeno en nuez, almendra y pistache por Teviotdale *et al.* (2002). En un trabajo realizado por Schroeder y Cole (1997) reportaron la presencia de *Alternaria* y sus toxinas: alternariol y monometil éter de alternariol en muestras de cáscara pecanera.

Para el género de *Eurotium* la muestra 03 con una densidad relativa del 67% fue la que tuvo mayor número de aislamientos en los dos medios de cultivo, por último para el género *Rhizopus* en la muestra 04 obtuvo el 100% de densidad relativa para los dos medios ensayados.

Los resultados obtenidos en la microbiota analizada de nuez pecanera concuerdan con los obtenidos por Belisario *et al.* (2002) quienes encontraron que los hongos de campo que predominaron en las nueces analizadas fueron los géneros de *Fusarium*, *Alternaria* y *Cladosporium*, y de almacén *Aspergillus* y *Penicillium* (Abdel-Hafez y Saber, 1993). En este trabajo el único género que no se aisló fue *Cladosporium*.

Cuadro 24. Microbiota presente en nuez pecanera en medio de cultivo PDA.

Muestras	No. de colonias presentes por muestra.															
	I		II		III		IV		V		VI		VII		VIII	
	a*	b*	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	B	a	b
01	2	40	1	33.3	0	0	6	85.7	5	16.1	1	33.3	0	0	0	0
02	0	0	0	0	0	0	0	0	18	58.1	0	0	0	0	0	0
03	1	20	2	66.6	0	0	0	0	4	12.9	2	66.6	0	0	0	0
04	2	40	0	0	1	100	0	0	2	6.4	0	0	7	100	7	20.6
05	0	0	0	0	0	0	0	0	2	6.4	0	0	0	0	18	52.9
06	0	0	0	0	0	0	1	14.3	0	0	0	0	0	0	0	0
07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	26.5
Total aislamientos	5		3		1		7		31		3		7		34	

I. *Fusarium*, II. *A. niger*, III. *A. flavus*, IV *Alternaria*, V. *Penicillium*, VI. *Eurotium*, VII. *Rhizopus*, VIII. Bacterias.

* a= número de aislamientos; * b= densidad relativa (%).

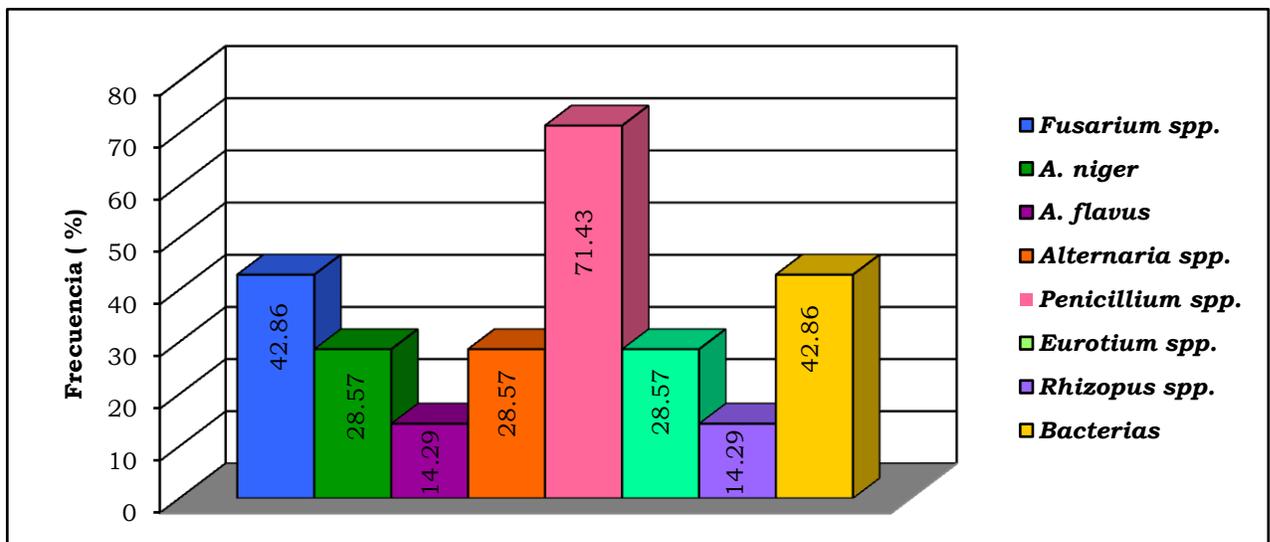


Figura 20. Frecuencia de la microbiota presente en nuez pecanera en PDA.

Cuadro 25. Microbiota presente en nuez pecanera en medio de cultivo MSA.

Muestras	No. de colonias presentes por muestra.															
	I		II		III		IV		V		VI		VII		VIII	
	a*	b*	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	B	a	b
01	0	0	1	25	0	0	1	33.3	4	14.3	0	0	0	0	0	0
02	0	0	0	0	0	0	0	0	18	64.3	0	0	0	0	0	0
03	3	27.3	0	0	0	0	1	33.3	4	14.3	2	66.6	0	0	0	0
04	8	72.7	3	75	1	50	0	0	2	7.1	1	33.3	1	100	0	0
05	0	0	0	0	1	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
06	0	0	0	0	0	0	1	33.3	0	0	0	0	0	0	0	0
07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	100
Total aislamientos	11		4		2		3		28		3		1		2	

I. *Fusarium*, II. *A. niger*, III. *A. flavus*, IV *Alternaria*, V. *Penicillium*, VI. *Eurotium*, VII. *Rhizopus*, VII. Bacterias.

* a= número de aislamientos; * b= densidad relativa (%).

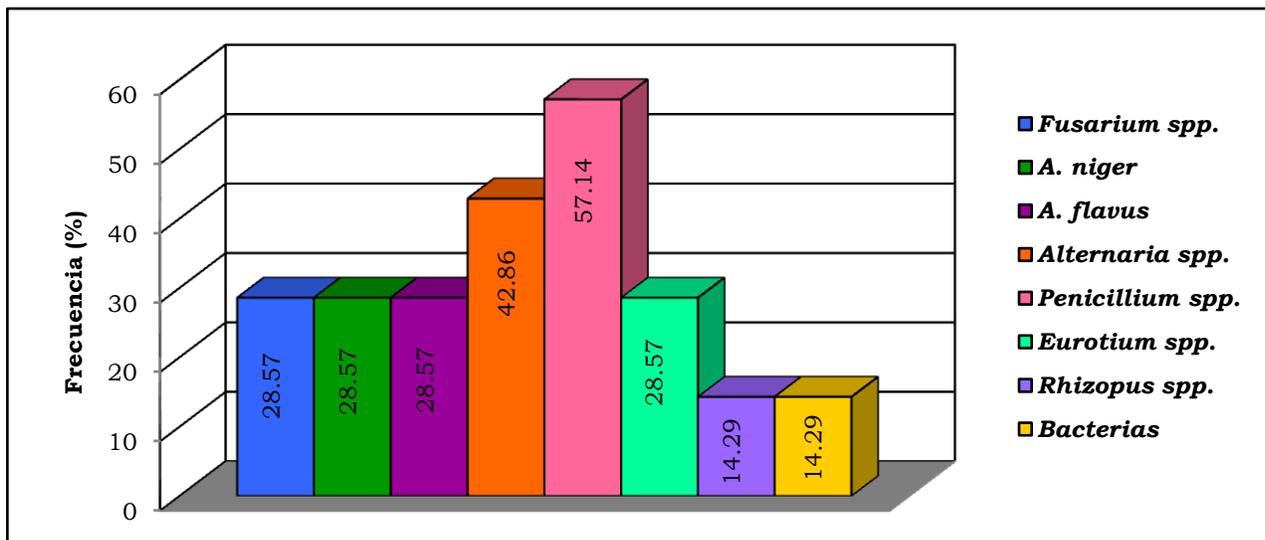


Figura 21. Frecuencia de la microbiota presente en nuez pecanera en MSA.

9.4 Identificación de *Penicillium* a nivel de especie

Es importante conocer las características de las estructuras morfológicas del género *Penicillium* que se desarrollaron en la nuez, ya que, son de gran importancia para diferenciar las distintas especies que pueden resultar idénticas a simple vista. Con el microscopio estereoscópico se pudo observar la macromorfología de los hongos: color y aspecto de la colonia (algodonosa, aterciopelada, costrosa, terrosa, etc.). Con el microscopio compuesto se observó el tamaño de los conidios, asimismo su forma, si es ramificado o no, forma de la vesícula, si es monoverticilado, biverticilado o surcado y si existe la presencia de esclerocios, aunque en realidad se toman en cuenta muchas otras características que no es posible señalar pero que siguiendo claves especializadas nos permitieron identificar las especies de este género.

Es de gran importancia conocer e identificar las especies de *Penicillium*, debido a que son de los hongos más abundantes y de mayor distribución geográfica que existen, crecen sobre material vegetal produciendo el deterioro de los mismos, llegan a descomponer grandes cantidades de semillas y granos almacenados, así como alimentos de todas clases, incluyendo los ensilados, que ya no pueden ser utilizados como alimento para animales o para el hombre (Herrera y Ulloa, 1990). En ocasiones, la infección por *Penicillium* se produce en granos leguminosas almacenadas a bajas temperaturas y con un contenido de humedad ligeramente por arriba de lo normal (Agris, 1998). Forman metabolitos secundarios; algunas especies de *Penicillium* forman metabolitos que pueden ser benéficos, ejemplos de éstos son: *Penicillium roqueforti*, que produce la típica pasta azul del queso roquefort y *Penicillium camemberti*, que produce la consistencia blanda de los quesos Camembert (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003); otro aspecto en el que los penicilios son muy importantes es, desde luego, la producción industrial de antibióticos como la penicilina sintetizada por cepas seleccionadas de *P. notatum* y *P. chrysogenum* ó la grieofulvina producido por *P. griseofulvum* (Herrera y Ulloa, 1990), sin embargo, otras especies de

este género forman metabolitos perjudiciales, muchos de los cuales son tóxicos para plantas, animales y para el ser humano. Estos metabolitos secundarios son conocidos como micotoxinas, y a la afección de éstos se le llama micotoxicosis.

En las muestras de nuez pecanera y maíz analizadas, se identificaron las siguientes especies: *Penicillium olsonii*, *Penicillium funiculosum* y *Penicillium oxalicum*, en nuez y *Penicillium janthinellum* solo en maíz. En el maíz De León (1984) menciona que las pudriciones de mazorca por *Penicillium* son causados más frecuente por la especie *P. oxalicum*, aunque ocasionalmente pueden estar presentes otras especies. Asimismo, menciona que muchas veces la infección está asociada con daño causado en la mazorca por insectos. Pitt y Hocking (1997) señalan que se ha encontrado hasta 4.5µg /kg de ácido secalónico D, producido por *P. oxalicum* y *P. monomermatosum*, en el polvo de las zonas de almacenamiento de grano. La dosis letal oral DL₅₀ en ratón de 400µg / kg de peso corporal. (Terao y Ohtsubo, 1991), la primera especie señalada fue aislada e identificada en la muestra 03 de nuez pecanera. La especie *P. janthinellum* identificada en granos de maíz (Cuadro 26) produce el ácido penicílico, toxina determinada en granos, frutas, hortalizas y carnes. El ácido penicílico es mutagénico con una DL₅₀ en ratón de 600µg/Kg. La viomelina y la xantomegnina son pigmentos formados también por *P. janthinellum* que pueden producir daño renal y hepático. Con una ingesta mayor a 450 µg/ kg puede producir la muerte de ratones (Pitt y Hocking, 1997).

Las especies identificadas son importantes porque además de causar deterioro algunas de ellas son productoras de micotoxinas, las cuales pueden persistir aún e alimentos procesados e incluso en la carne de los animales alimentados con forraje o granos contaminados y pueden ser transmitidos a la cadena alimenticia humana planteando posiblemente un problema de salud pública. Para la especie *p. funiculosum* no se ha encontrado que sea productor de micotoxinas.

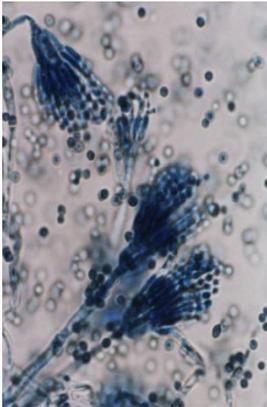
En el cuadro 26 se muestra la procedencia de donde fueron aisladas cada una de las especies identificadas y las micotoxinas que pueden producir.

Cuadro 26. Aislamientos de las especies de *Penicillium* de las muestras en estudio.

Muestra	Especie
Nuez 03	<i>P. olsonii</i>
01	<i>P. oxalicum</i>
02	<i>P. funiculosum</i>
Maíz 12	<i>P. janthinellum</i>

En los cuadros 27, 28, 29 y 30 se describen las características macro y micro morfológicas consideradas para la identificación de las especies de *Penicillium* aisladas de las muestras de nuez adquiridas en tres centros de distribución del Municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Cuadro 27. Características de la macromorfología y micromorfología de *P. olsonii* aislado de nuez pecanera (Pitt, 1980).

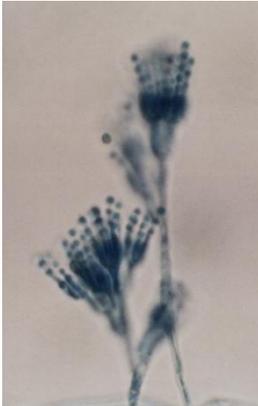
Especie	Conidios	Conidióforo	Macromorfología de la colonia	Características distintivas
<p><i>P. olsonii</i> Bainier & Sartory.</p>  <p>40x</p>	<p>Conidios abundantes, unicelulares de forma circular a elíptica se producen en cadenas desordenadas, con paredes lisas y miden apróx. 3.5µm.</p>	<p>Nace en la base de la hifa, muy largo, con estípites típicamente de 4.0-6.0µm, pero ocasionalmente más largos, terminan característicamente con apretadas multiramificaciones, usualmente terventicilados o algunas veces tetraventicilados.</p>	<p>En CYA 25°C, 7 días: colonias típicamente con un diámetro de 30-40 mm, planas o ligeramente radiales y sulcadas, micelio inconspicuo, de color blanco a café pálido, conidiogénesis de moderada a abundante, el borde de la colonia de color verde. En MEA 25°C, 7 días: colonias de 25-35 mm, planas y algunas veces embonadas, velutinosas, micelio inconspicuo excepto en el centro, de color blanco a ante. Conidiogénesis moderada. G25N 25°C, 7 días: colonias de 22 - 28 mm de diámetro, similar en la morfología y coloración a las colonias en CYA, exudados y pigmentos soluble ausente; al reveso de pálido a amarillo. 5°C CYA, 7 días: limitada germinación de conidios y formación de microcolonias. 37°C, CYA, 7 días: no crece.</p>	<p>Es una especie única que regularmente produce terminales multiramificadas, agrupadas en el ápice de una sola estípite. Métulas en verticilos de 3 -5 y de 3.0-4.0µm y con fiálides de 5 -8 por métula. De forma ampuliforme.</p>

Créditos de fotografía: Casimiro-Delgadillo A. P., Olvera-Galván B. y Pérez-Reyes M.C., FES Cuautitlán, UNAM.

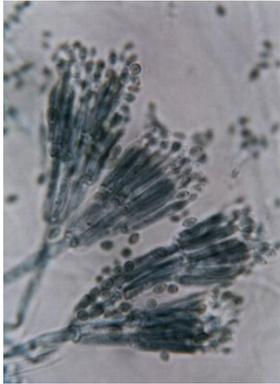
Cuadro 28. Características de la macromorfología y micromorfología de *P. oxalicum* aislado de nuez pecanera (Pitt, 1980).

Especie	Conidios	Conidióforo	Macromorfología de la colonia	Características distintivas
<p><i>P. oxalicum</i> Currie & Thom.</p>  <p>40x</p>	<p>Conidios elipsoidales, muy grandes, 3.5-5.0x2.5-4.0µm, con paredes lisas o raramente finamente rugosas, nacen en largas columnas.</p>	<p>Nacen en la base del micelio, estípites mayores de 3.5 - 5.0µm, con paredes delgadas y lisas y terminaciones en verticilios de 2 -4 métulas o menos comúnmente en penicilios ramificados y ocasionalmente monoverticilado.</p>	<p>CYA 25°C, 7 días: colonias de 35-60mm de diámetro, planas o radialmente sulcadas y algunas veces convolutas en el centro, velutinosa o ligeramente flocosa en algunas áreas del centro, micelio inconspicuo generalmente, crecen de color salmón. MEA 25°C, 7 días: las colonias varían en su tamaño de 20-50mm, planas o ligeramente radiales y sulcadas, o convolutas, la superficie de textura velutinosa, micelio blanco, exudado y pigmento soluble ausente, al reverso pálido, amarillo, naranja o verdoso. G25N 25°C, 7 días: colonias 14-16mm de diámetro, algunas veces solo 12mm, plana o sulcada y el centro convoluto, velutinosa de micelio blanco, conidiogénesis ausente o moderada, oliva a café y pigmento soluble ausente, al reverso pálido, verde, oliva o salmón. 5°C, CYA, 7 días: no crece 37°C, CYA, 7 días: colonias típicamente de 20-40mm de diámetro, oliva a café y ausente de pigmento soluble en el medio.</p>	<p>Crece rápidamente en CYA a 25°C y produce terminales irregulares de los penicilios. Sin embargo existen algunas similitudes entre las distintas especies: todas crecen moderadamente rápido, todas al menos esporulan en 5°C y todas producen largos estípites.</p>

Cuadro 29. Características de la macromorfología y micromorfología de *P. funiculosum* aislado de nuez pecanera (Pitt, 1980).

Especie	Conidios	Conidióforo	Macromorfología de la colonia	Características distintivas
<p><i>P. funiculosum</i> Thom.</p>  <p>40x</p>	<p>Conidios cilíndricos a elipsoidales, típicamente pequeños, en algunos aislados 2.2-2.5 o 1.5-1.8µm, con paredes lisas y nacen en pequeñas columnas.</p>	<p>Nacen de hifas aéreas, usualmente de funiculos bien definidos, estípites cortos, comúnmente 2.5 -3.0µm, en algunos aislados aún más cortos, con paredes lisas a finamente rugosas, tienen penicilios biverticilados y ocasionalmente formas irregulares mas complejas. Métulas en verticilios de 5-7, casi paralelas, fiálides de 5-8 por métula, de forma acerosa.</p>	<p>CYA 25°C, 7 días: colonias de 25-35mm de diámetro, ocasionalmente 5mm más grandes, planas y moderadamente densa, típicamente conspicuas y ocasionalmente casi velutinosas. Micelio algunas veces blanco pero más comúnmente salmón a durazno. Exudados claros y pigmento soluble rosa producido en algunas cepas, al reverso pálidos, café, café -rojizo o coral. MEA 25°C, 7 días: colonias de 25-45mm de diámetro, algunas veces embonadas y ocasionalmente flocosa, micelio usualmente blanco o menos comúnmente salmón, exudado y pigmento soluble ausente y al reverso pálido, café, naranja o café-rojizo. G25N 25°C, 7 días: colonias de 3-8mm de diámetro, planas, micelio blanco y ligera conidiogénesis, pálido, gris; exudados y pigmentos solubles ausentes, reverso pálido a olivo. 5°C, CYA, 7 días: no esporula. 37°C, CYA, 7días: colonias de 30-45mm de diámetro, o 20 mm, de textura flocosa, micelio blanco.</p>	<p>Algunas cepas son velutinosas, de crecimiento rápido a 37°C, similar al de CYA 25°C y más flocosa; conidios en masa presentan una coloración gris verdosa, excepcionalmente estípites cortos y conidios muy pequeños y cilíndricos.</p>

Cuadro 30. Características de la macromorfología y micromorfología de *P. janthinellum* aislado de maíz (Pitt, 1980).

Especie	Conidios	Conidióforo	Macromorfología de la colonia	Características distintivas
<p><i>P. janthinellum</i> Biourge.</p>  <p>40x</p>	<p>La mayoría de las veces esferoidal, 2.2-3.0µm de diámetro, pero algunas veces de piramidal a elipsoidal, de 2.0-2.5µm con paredes lisas a finamente rugosas, nacen de cortas a moderadamente largas cadenas desordenadas.</p>	<p>Nace de la base o de una hifa aérea, estípites de paredes lisas y delgadas con un ligera curvatura, típicamente de 2.0-2.5µm, pero en algunos aislados más cortos de 1.5-1.8µm, usualmente terminan de forma irregular a regular, verticilios de 2-3 métulas, fiálides en verticilios de 4-8, ampuliformes.</p>	<p>CYA 25°C, 7 días: colonias de 50mm de diám., toscamente o finamente radiales y sulcadas o convolutas, micelio blanco, gris, ante, pálido, amarillo o rosa pálido, exudados de claros a cafés y pigmento soluble café -rojizo. MEA 25°C, 7 días: colonias de 35-45mm de diámetro, usualmente flocosas, micelio inconspicuo de blanco a ante, conidiogénesis de ligera a abundante, coloración similar a la de CYA y amarillo o café, pigmentos solubles y exudados ausentes. G25N 25°C, 7 días: colonias de 12-16mm de diámetro, raramente 2 mm. Plana, velutinosa a flocosa, micelio inconspicuo de blanco a amarillo, conidiogénesis ausente o ligera de color gris verdosa, exudado y pigmento soluble ausente, reverso pálido, amarillo, café o rosa. 5°C CYA, 7 días: no esporula. 37°C CYA, 7 días: colonias de 10-30mm de diámetro, usualmente convoluta y algunas veces flocosa.</p>	<p>Colonias en CYA y MEA a 25°C crecen rápidamente, usualmente flocosa y de conidiogénesis ligera. Penicilios usualmente biverticilados y algunas veces aparecen monoverticilados. Estípites delicados y de paredes suaves. Y conidios con paredes de suaves a finamente rugosas.</p>

Créditos de fotografía: Casimiro-Delgadillo A. P., Olvera-Galván B. y Pérez-Reyes M.C., FES Cuautitlán, UNAM.

9.5 Prueba de actividad antifúngica *in vitro* de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de *Fusarium graminearum*.

Los resultados obtenidos de las propiedades antifúngicas de los 9 aceites esenciales *in vitro* demostraron que en la dosis inicial probada de 0.1% (Cuadro 31) los aceites de canela, clavo, orégano y tomillo presentaron el mejor efecto antifúngico ya que se observa una inhibición de *F. graminearum* del 100% durante todo el período de incubación (360 h).

Los aceites esenciales de canela y tomillo mostraron un efecto fungicida, mientras que los aceites de clavo y orégano tuvieron un efecto fungistático (Cuadro 31).

El aceite que no mostró actividad antifúngica, en esta dosis, fue el de ajo siendo estadísticamente igual al testigo (8.03cm).

Además de los aceites esenciales que inhibieron completamente el desarrollo de *F. graminearum* (canela, clavo, orégano y tomillo), el aceite esencial de menta fue el que presentó un mayor efecto inhibitorio en comparación con los otros aceites que permitieron el desarrollo del hongo, observándose finalmente un grado de inhibición del 54 % con un crecimiento de la colonia de 4.1 cm en comparación con el testigo que presentó un crecimiento de 8.93 cm.

Otro aceite que mostró actividad fungistática y un grado de inhibición de 41.4% fue el de cilantro con un crecimiento micelial de 5.23 cm, el extracto de anís presentó un menor porcentaje de inhibición representando un 28%, mientras que el ajo y la cebolla resultaron ser los aceites esenciales que presentaron menor actividad antifúngica obteniendo un menor grado de inhibición del 10% y 2.01% respectivamente, sobre el desarrollo de *F. graminearum* a una concentración empleada de 0.1%.

Para determinar la dosis mínima de inhibición en aquellos aceites esenciales que impidieron completamente el desarrollo de las colonias de *F. graminearum* (canela, clavo, orégano y tomillo) a una concentración inicial de 0.1% se procedió a bajar la dosis a una concentración de 0.05 y 0.025%.

En el Cuadro 31 se presenta la evaluación del efecto de los aceites esenciales (canela, clavo, orégano y tomillo) a una concentración de 0.05% sobre el crecimiento de *F. graminearum* observando un 100% de inhibición en los aceites de canela, clavo y tomillo durante todo el período de incubación (360 h), así mismo se determinó un efecto fungicida para los aceites de canela y tomillo y un efecto fungistático para el aceite esencial de clavo.

Se observa que en el extracto de orégano se desarrolló una pequeña colonia de 0.56 cm representando un grado de inhibición del 93.7%, mostrando así un efecto fungistático.

Se observa que al emplear una dosis de 0.025%, el aceite esencial que mantuvo la inhibición total del 100% durante todo el período de incubación (360 h) sobre *F. graminearum* fue el de canela (Cuadro 31). Comparando los resultados obtenidos con el trabajo realizado por García, *et al.*, (2006), indican que el aceite esencial de canela es un buen inhibidor ya que estos autores probaron una dosis mínima de 100 ppm (0.01%) sobre el desarrollo de *A. flavus* y aún siguió inhibiendo el desarrollo de esta especie en un 83%; presentando también una actividad fungistática.

En el extracto de clavo se observó un crecimiento mínimo de la colonia de 0.3 cm, lo que indica que el grado de inhibición fue del 96.6%, seguido del aceite esencial de orégano que presentó un 90.7% de inhibición con un crecimiento final de la colonia de 0.83 cm (Cuadro 31).

Estos resultados muestran que a una concentración mínima inhibitoria, el aceite esencial que presentó mejor efecto antifúngico sobre esta especie fue el aceite de canela seguido del clavo y por último el extracto de tomillo ya que

este obtuvo un grado de inhibición del 61.9% presentando un crecimiento de colonia de *F. graminearum* de 3.4 cm.

En los aceites de clavo y tomillo la dosis mínima inhibitoria se determinó en 0.05% ya que a esta concentración no hubo desarrollo del hongo, mostrando un grado de inhibición del 100%.

En aquellos aceites esenciales que no inhibieron completamente el crecimiento de las colonias (ajo, anís, cebolla, cilantro y menta) se subió la dosis inicial probada (0.1%) a una concentración de 0.15, 0.25, 0.35 y 0.45% para determinar la dosis máxima inhibitoria.

En el Cuadro 31 se muestran los resultados obtenidos de estos aceites esenciales empleando una concentración de 0.15%, donde se puede observar que para estos cinco aceites esenciales probados, hubo un incremento en el desarrollo de las colonias encontrando que ninguno de estos aceites inhibió completamente el crecimiento del hongo, sin embargo comparando el grado de inhibición entre estos aceites, el ajo fue el que mostró un mayor efecto antifúngico presentando un 68.6% de inhibición. Para el extracto de anís y cilantro se observa que las colonias superan el crecimiento de las colonias testigo, demostrando que estos aceites esenciales no tienen efecto sobre el desarrollo de *F. graminearum* a una dosis empleada de 0.15%.

Al emplear una concentración de 0.25% (Cuadro 31) se observa que durante el período de incubación, estos tres aceites (anís, cilantro y menta) siguieron presentando poco efecto sobre el crecimiento del hongo, destacándose el aceite de cilantro ya que este resultó no tener ningún efecto de inhibición, puesto que sobrepasa incluso el crecimiento de la colonia testigo, le sigue el extracto de anís presentando tan solo un 36.9% de inhibición y un crecimiento de colonia de 5.63 cm, siendo el mejor inhibidor la menta con un grado de inhibición del 72.4%.

Los únicos aceites esenciales que obtuvieron un grado de inhibición del 100% al emplear esta dosis fueron el ajo y la cebolla presentando una actividad fungistática sobre *F. graminearum*.

Al elevar la dosis a 0.35% en aquellos aceites esenciales (anís, cilantro y menta) que no inhibieron completamente el desarrollo de *F. graminearum* aún utilizando una concentración de 0.25%, se observa que estos tres aceites esenciales siguieron permitiendo el crecimiento de las colonias, mostrándonos que el mejor inhibidor de *F. graminearum* es la menta con un 92.1% de inhibición, seguido del aceite esencial de anís (84.4%) y finalmente el aceite esencial de cilantro con tan solo el 22.9% de inhibición sobre el desarrollo de esta especie de *Fusarium* resultando ser estadísticamente igual al testigo. En este caso estos extractos mostraron un efecto parcial (fungistático) sobre *F. graminearum*.

La dosis máxima probada fue de 0.45% (Cuadro 31) en la cual los aceites esenciales de cilantro y menta alcanzaron el 100% de grado de inhibición sobre esta especie de *Fusarium*, mientras que el aceite esencial de anís presentó un crecimiento de la colonia de 0.75 cm, representando un 91.6% de inhibición, por lo que este fue el único aceite en el que no se observó un completo efecto de inhibición sobre *F. graminearum*.

En cuanto a su actividad antifúngica, el cilantro fue el único que obtuvo una actividad fungicida lo que significa que inhibió completamente el crecimiento de *F. graminearum*.

Cuadro 31. Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de *F. graminearum* empleando 7 concentraciones diferentes durante un periodo de 360 horas.

Aceite Esencial	Concentración de Aceite Esencial (%)													
	0.1		0.05		0.025		0.15		0.25		0.35		0.45	
	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)
Testigo	8.93 a*		8.93 a		8.93 a		8.93 a		8.93 a		8.93 a		8.93 a	
Ajo	8.03 a*	10	--	--	--	--	2.8 d	68.6	0 d	100	--	--	--	--
Anís	6.36 b	28	--	--	--	--	9 a ^z	0	5.63 b	36.9	1.35 c	84.4	0.75 b	91
Canela	0 e ^y	100	0 b	100	0 c	100	--	--	--	--	--	--	--	--
Cebolla	8.75 a	2.01	--	--	--	--	4.2 c	52.9	0 d	100	--	--	--	--
Cilantro	5.23 c	41.4	--	--	--	--	9.3 a	0	9 a	0	6.88 b	22.9	0 c	100
Clavo	0 e	100	0 b	100	0.3 c	96.6	--	--	--	--	--	--	--	--
Menta	4.1 d	54	--	--	--	--	7.65 b	14.3	2.46 c	72.4	0.7 c	92.1	0 c	100
Orégano	0 e	100	0.56 b	93.7	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Tomillo	0 e	100	0 b	100	3.4 b	61.9	--	--	--	--	--	--	--	--

* Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

CC= Crecimiento de colonia; I= Grado de inhibición.

^x Fungistático; ^y Fungicida; ^z Sin efecto.

9.6 Prueba de actividad antifúngica *in vitro* de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de *Fusarium moniliforme*.

En los resultados obtenidos del ensayo en el efecto de inhibición de los aceites esenciales sobre el desarrollo de *F. moniliforme*, se observa que a partir de la dosis probada de 0.1% (Cuadro 32) los aceites esenciales que fueron los mejores inhibidores durante el período de incubación fueron los de canela, clavo y tomillo ya que impidieron el 100% del crecimiento de esta especie mostrando un efecto fungicida para la canela y el tomillo y fungistático para el aceite esencial de clavo.

En un trabajo de investigación realizado por Bravo *et al.* (2009), se encontró que al emplear medios con material vegetal, en este caso de tomillo, sobre el desarrollo de *F. moniliforme* inhibió el crecimiento y la esporulación de esta especie en un 55%. Debe considerarse que el estudio realizado por Bravo *et al.* (2009) fue mediante polvos de plantas, en este trabajo se emplearon aceites esenciales, lo cual representa una diferencia cualitativa y cuantitativa de los principios activos del tomillo.

Al bajar la dosis inicial a 0.05% para aquellos aceites esenciales que presentaron una completa inhibición (Cuadro 32) no se observan cambios de forma significativa ya que los aceites esenciales de canela, clavo y tomillo que fueron sometidos a esta dosis siguen presentando un efecto inhibitorio de 100% sobre el crecimiento de *F. moniliforme*, mostrando también que aunque se bajo su concentración, éstos siguen manteniendo un efecto fungicida (canela y tomillo) y fungistático (clavo).

En la dosis mínima probada de 0.025% (Cuadro 32) los aceites esenciales de canela, clavo y tomillo no conservan el 100% de grado de inhibición que presentaron en las dosis probadas de 0.1 y 0.05% ya que hay presencia del crecimiento micelial con 2.13, 1.91 y 1.05 cm respectivamente, obteniendo finalmente que ninguno de estos tres aceites esenciales inhibió

completamente el desarrollo de *F. moniliforme* en esta dosis. Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Soliman y Badeaa (2002) ya que al emplear al aceite esencial de tomillo a una concentración de 250 ppm (0.025%) inhibió el crecimiento de *A. flavus* y *F. moniliforme*, sin embargo al ser empleado a una concentración de 500 ppm (0.05%) este aceite inhibió en su totalidad el crecimiento micelial de estas especies.

Estos aceites probados muestran diferencias significativas con el testigo, encontrando que el grado mayor de inhibición lo presentó el aceite esencial de tomillo con un 78.3%, seguido del clavo con 60.6% y finalmente la canela con un 56.1% de inhibición, demostrando también que éstos aceites presentan un efecto fungistático sobre esta especie.

Empleando una dosis mayor, 0.15% (Cuadro 32) los aceites esenciales que inhibieron completamente el desarrollo de esta especie fueron el ajo y orégano. Los aceites que no inhibieron en su totalidad a *F. moniliforme* fueron los de cebolla y menta presentando un crecimiento de colonia de 2.1 cm y 3.2 cm respectivamente, seguido de los aceites de cilantro (3.9 cm) y anís (4.1 cm), todos estos aceites esenciales tuvieron un efecto parcial (fungistático) sobre *F. moniliforme*.

Los resultados del aceite esencial de orégano no coinciden con lo encontrado por Daferera *et al.* (2003) quienes evaluaron los efectos inhibitorios de este aceite sobre *Fusarium moniliforme* encontrando que a una concentración de 150 ppm inhibieron el desarrollo de esta especie, sin embargo, en este trabajo se logró inhibir a este hongo a partir de una dosis de 0.15% la cual es mayor a la empleada por dichos autores.

Los aceites esenciales de cebolla y cilantro empleados a una concentración de 0.25% (Cuadro 32) no muestran diferencias significativas entre sí ya que ambos inhiben el desarrollo de las colonias de *F. moniliforme*.

Además de los aceites esenciales que inhibieron completamente el desarrollo de *F. moniliforme* (cebolla y cilantro), el aceite esencial de anís fue el que presentó un mayor efecto de inhibición con un 74.6%, en comparación con el de menta que presentó un 52.4% de inhibición sobre el desarrollo de esta especie. Los resultados mostraron también, un efecto fungicida en el aceite esencial de cilantro y un efecto fungistático en los aceites esenciales de cebolla y menta.

A una dosis probada de 0.35% (Cuadro 32) el aceite esencial de anís alcanza un crecimiento de colonia de 1.96 cm, representando un 59.6% de grado de inhibición, mientras que el aceite esencial de menta inhibió totalmente el crecimiento micelial presentando, ambos, un efecto fungistático sobre *F. moniliforme*.

Al emplear la concentración máxima probada de 0.45% (Cuadro 32) el aceite esencial de anís presentó un porcentaje de inhibición similar a la prueba *in vitro* anterior con *F. graminearum* que fue de 91.6%, en este caso al ser utilizado en *F. moniliforme* inhibió un 86.6%. Siendo este el único aceite que no presentó un grado de inhibición del 100% mostrando un efecto fungistático sobre el desarrollo de esta especie.

Cuadro 32. Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de *F. moniliforme* empleando 7 concentraciones diferentes durante un periodo de 360 horas.

Aceite Esencial	Concentración de Aceite Esencial (%)													
	0.1		0.05		0.025		0.15		0.25		0.35		0.45	
	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)
Testigo	4.86 a*		4.86 a		4.86 a		4.86 a		4.86 a		4.86 a		4.86 a	
Ajo	4.16 a^x	14.4	--	--	--	--	0 e	100	--	--	--	--	--	--
Anís	4.61 a	5.14	--	--	--	--	4.11 b	15.4	1.23 c	74.6	1.96 b	59.6	0.65 b	86.6
Canela	0 b^y	100	0 b	100	2.13 b	56.1	--	--	--	--	--	--	--	--
Cebolla	4.53 a	6.79	--	--	--	--	2.1 d	56.7	0 d	100	--	--	--	--
Cilantro	4.76 a	2.05	--	--	--	--	3.93 b	19.1	0 d	100	--	--	--	--
Clavo	0 b	100	0 b	100	1.91 b	60.6	--	--	--	--	--	--	--	--
Menta	3.25 a	33.1	--	--	--	--	3.28 c	32.5	2.31 b	52.4	0 c	100	--	--
Orégano	0.6 b	87.6	--	--	--	--	0 e	100	--	--	--	--	--	--
Tomillo	0 b	100	0 b	100	1.05 b	78.3	--	--	--	--	--	--	--	--

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, p < 0.05).

CC= Crecimiento de colonia; I= Grado de inhibición.

^x **Fungistático**; ^y **Fungicida**.

9.7 Prueba de actividad antifúngica *in vitro* de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de *Fusarium oxysporum*.

Los resultados obtenidos de las propiedades antifúngicas de los 9 aceites esenciales demostraron que a partir de la dosis inicial probada de 0.1% (Cuadro 33) los aceites esenciales de canela y orégano presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) observándose una inhibición del 100% sobre el desarrollo de *F. oxysporum* durante todo el período de incubación (360 horas), sin embargo entre los demás aceites esenciales (ajo, anís, cebolla, cilantro, clavo, menta y tomillo) el crecimiento micelial fue mayor, en donde los aceites de clavo y tomillo presentaron también un efecto inhibitorio del 18 y 33.5% respectivamente.

A esta misma concentración, el ajo (7.01 cm), cebolla (7.13 cm), cilantro (6.56 cm) y menta (6.36 cm) presentaron una mayor actividad antifúngica sobre el crecimiento de colonias de esta especie, en comparación con el aceite esencial de anís (8.35 cm), siendo éste el único que no mostró efecto inhibitorio sobre el desarrollo de *F. oxysporum*, ya que presentó un mayor crecimiento micelial que el testigo.

Al disminuir la concentración a 0.05% de los aceites de canela y orégano (Cuadro 33) se demuestra que el orégano pierde su propiedad antifúngica presentando una disminución en su capacidad de inhibición obteniendo un 76.8% de inhibición sobre *F. oxysporum*, mientras que el aceite esencial de canela sigue manteniendo el 100% de inhibición sobre el crecimiento micelial de esta especie, así mismo estos aceites esenciales siguen conservando un efecto fungistático.

Cueto y Rivas (2007) demostraron, mediante un estudio *in vitro*, que el aceite esencial de orégano como inhibidor del crecimiento de *F. oxysporum* empleando concentraciones de 0.025 y 0.05% resultó ser efectivo, encontrando que no existían diferencias significativas entre dichos

tratamientos; sin embargo al ser empleado a una dosis de 0.05% inhibió mejor el crecimiento de dicha especie con un 77.6% de inhibición, en comparación con la dosis probada de 0.025% que inhibió un 75.4% sobre esta especie.

Al disminuir aún más la dosis inicial a 0.025% (Cuadro 33) se demuestra que el aceite esencial de canela pierde actividad fungistática observándose el desarrollo de *F. oxysporum* con un crecimiento micelial de 4.51 cm y un grado de inhibición del 41.2%.

En una investigación sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* mediante el aceite esencial de canela, López *et al.* (2005) mencionan que aunque no inhibió completamente el desarrollo de esta especie, este aceite esencial presentó el 31.4% de inhibición a una dosis empleada del 0.5%, mientras que a una dosis probada del 0.10% presentó un efecto inhibitorio del 63.6% por un período de incubación de 144 horas. En este estudio se demuestra que el aceite esencial de canela inhibió el 41.2% el desarrollo de *F. oxysporum* aplicando una dosis de 0.025% por un período de incubación de 360 horas (15 días).

Los resultados obtenidos al emplear una dosis más alta, 0.15% (Cuadro 33) mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) siendo los aceites esenciales de clavo y tomillo los que presentaron un mayor efecto antifúngico observando una inhibición del 100% sobre el crecimiento micelial de *F. oxysporum*.

Los estudios realizados por Lizcano (2007), muestran que el aceite de tomillo inhibe el crecimiento de *F.oxysporum in vitro* con un 74%, empleando una máxima concentración de 0.5%, por un período de incubación de 7 días, sin embargo, en este estudio realizado se encontró que el porcentaje de inhibición sobre esta especie es del 100% empleando una dosis menor (0.15%) por un período más largo de incubación (15 días).

Los aceites esenciales que no mostraron un buen efecto inhibitorio, empleando esta dosis, fueron el anís y cilantro este último presentó un 2.34% de inhibición y el anís no tuvo ningún efecto sobre el desarrollo de esta especie. El ajo, la menta y cebolla presentaron un mayor efecto inhibitorio (25.3, 28.3 y 35.4% respectivamente). Los únicos aceites esenciales que presentan un efecto inhibitorio total (fungicida) sobre *F. oxysporum* fueron el clavo y el tomillo.

Al emplear una concentración de 0.25% (Cuadro 33) se muestra que los únicos aceites esenciales que no permitieron el desarrollo del hongo con un 100% de grado de inhibición fueron el ajo y la cebolla, presentando para ambos un efecto fungistático sobre *F. oxysporum*.

En cuanto a los aceites esenciales que no inhibieron en su totalidad a esta especie de *Fusarium* se muestra numéricamente que el mejor inhibidor fue el anís con un crecimiento micelial de 3.4 cm presentando un 55.7% de inhibición, seguido del aceite de cilantro con 3.66 cm de crecimiento de la colonia y un 52.3% de grado de inhibición, obteniendo finalmente que el aceite esencial de menta inhibió el 50.1% presentando un crecimiento micelial de 3.83 cm, no observándose diferencias significativas entre ellos pero sí con el testigo.

El Cuadro 33 muestra los resultados obtenidos al probar una dosis de 0.35% en los aceites esenciales de anís, cilantro y menta sobre el desarrollo de *F. oxysporum*, en donde se puede observar el crecimiento micelial en el aceite de cilantro con 0.83 cm obteniendo finalmente que este aceite esencial, en esta concentración, es el mejor inhibidor de *F. oxysporum* ya que casi no permitió su crecimiento representando un 89.1% de inhibición. Los tres aceites probados mostraron un efecto fungistático.

Empleando la dosis máxima, 0.45% (Cuadro 33) los aceites esenciales de cilantro y menta fueron los que presentaron mayor actividad antifúngica inhibiendo el 100% del crecimiento micelial de *F. oxysporum*, en donde el extracto de cilantro mostró un efecto fungicida, mientras que el de menta tuvo un efecto fungistático. Una vez más el aceite esencial de anís fue el único que no inhibió el desarrollo de esta especie de *Fuasarium* presentando un 77% de grado de inhibición, con un crecimiento de colonia de 1.76 cm.

Cuadro 33. Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de *F. oxysporum* empleando 7 concentraciones diferentes durante un periodo de 360 horas.

Aceite Esencial	Concentración de Aceite Esencial (%)													
	0.1		0.05		0.025		0.15		0.25		0.35		0.45	
	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)
Testigo	7.68 a*		7.68 a		7.68 a		7.68 a		7.68 a		7.68 a		7.68 a	--
Ajo	7.01 a ^x	8.7	--	--	--	--	5.73 b	25.3	0 c	100	--	--	--	--
Anís	8.35 a ^z	0	--	--	--	--	8.06 a	0	3.4 b	55.7	2.81 b	63.41	1.76 b	77
Canela	0 c	100	0 b	100	4.51 b	41.2	--	--	--	--	--	--	--	--
Cebolla	7.13 a	7.16	--	--	--	--	4.96 c	35.4	0 c	100	--	--	--	--
Cilantro	6.56 a	14.5	--	--	--	--	7.5 a	2.34	3.66 b	52.3	0.83 c	89.1	0 c	100
Clavo	6.3 a	18.0	--	--	--	--	0 d ^y	100	--	--	--	--	--	--
Menta	6.36 a	17.1	--	--	--	--	5.5 bc	28.3	3.83 b	50.1	3.03 b	60.5	0 c	100
Orégano	0 c	100	1.78 b	76.8	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Tomillo	5.1 b	33.5	--	--	--	--	0 d	100	--	--	--	--	--	--

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, p < 0.05).

CC= Crecimiento de colonia; I= Grado de inhibición.

^x Fungistático; ^y Fungicida; ^z Sin efecto.

9.8 Prueba de actividad antifúngica *in vitro* de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de *Penicillium olsonii*.

La información actualmente disponible respecto al mecanismo de acción de los AEs es escasa; en lo reportado se coincide en que, al ser mezclas complejas de numerosas moléculas con gran diversidad de grupos químicos, es muy probable que la actividad antimicrobiana no se atribuya a un mecanismo específico. El carácter hidrofóbico de los AEs les permite incorporarse en los lípidos de las membranas bacterianas y mitocondriales, perturbando su estructura y consecuentemente su permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y otros contenidos celulares vitales, conduciendo finalmente a la muerte del microorganismo. Los AEs también podrían actuar sobre las proteínas embebidas en la membrana citoplasmática deformando la interacción lípido-proteína y afectando la actividad de enzimas como la ATP_{asa}, disminuyendo la producción de energía requerida para el funcionamiento celular; otra posible acción sería la interacción directa de los componentes lipofílicos con las partes hidrofóbicas de la molécula de proteína (Lambert *et al.*, 2001).

Los resultados obtenidos de las propiedades antifúngicas de los nueve aceites esenciales *in vitro* sobre el efecto inhibitorio *P. olsonii* muestran que a la dosis inicial de 0.1% (Cuadro 34), los aceites que presentaron el mejor efecto antifúngico fueron el de canela y tomillo, observándose una inhibición del 100% durante todo el período de incubación (360 h). Hitokoto *et al.* (1978), reportaron que la canela tiene un fuerte efecto inhibitorio en mohos. Así mismo, Delgado *et al.* (2003), menciona que el timol y el carvacrol, presentes en el aceite esencial de tomillo, son ejemplos de conservadores naturales que han sido reportados por tener efectos inhibitorios sobre el desarrollo de bacterias y hongos. Los aceites de canela y tomillo mostraron un efecto fungicida mientras que los aceites de clavo, menta y orégano tuvieron un efecto fungistático. Según Eklund (1989) los antimicrobianos tienen varios sitios de ataque dentro de una célula, y según la concentración puede causar

inhibición o inactivación de los microorganismos. Los aceites esenciales que inhibieron completamente el desarrollo de *P. olsonii* (canela y tomillo), el aceite esencial de clavo fue el que presentó un mayor efecto de inhibición (52.79%) y un crecimiento de colonia de 1.78 cm en comparación a los aceites de orégano (39.52% de inhibición) y de menta (12.20% de inhibición). Los aceites de ajo, anís, cebolla y cilantro a una concentración de 0.1% no demostraron ningún grado de inhibición y por tanto no presentaron ninguna actividad antifúngica sobre el desarrollo de *P. olsonii*.

En los aceites esenciales que mostraron una completa inhibición del desarrollo de *P. olsonii* a 0.1%, se disminuyó la concentración inicial a 0.05 y 0.025% para determinar la dosis mínima de inhibición. Empleando una dosis de 0.05% se observa un 100% de inhibición en el aceite de canela durante las 360 h de incubación, así mismo, se determinó un efecto fungicida para este aceite y un efecto fungistático para el aceite esencial de tomillo. Se observó que en el tomillo esta especie presentó un crecimiento de 2.06 cm por lo que, se infiere que el aceite esencial de tomillo a esta concentración presenta un menor efecto inhibitorio mostrando un grado de inhibición de 45.36%. Como la canela siguió presentando una completa inhibición se bajo la dosis a 0.025% y se observó que el aceite permitió un crecimiento de la colonia de *P. olsonii* de 0.93 cm representando un grado de inhibición del 75.33%.

En aquellos aceites esenciales que no inhibieron al 100% el crecimiento de *P. olsonii* a una concentración de 0.1% se incrementó la dosis a 0.15, 0.25, 0.35 y 0.45%, esto con el fin de encontrar la dosis máxima de inhibición.

Los aceites que presentaron el mejor efecto antifúngico empleando una dosis de 0.15% fueron el de ajo, clavo y orégano, observándose una inhibición del 100% durante todo el periodo de incubación (360 h). De esta forma, Grainge y Ahmed (1988), citados por Montes-Belmont (1996), indican que el ajo y la cebolla, con compuestos azufrados como principios activos, son las especies que destacan con un mayor espectro de acción inhibitoria.

El aceite de ajo mostró un efecto fungicida mientras que los aceites de clavo, orégano, cebolla y menta tuvieron un efecto fungistático.

Además de los aceites esenciales que inhibieron completamente el desarrollo de *P. olsonii*, el aceite de cebolla fue el que presentó un mayor efecto de inhibición (82.49%) y un crecimiento de colonia de 0.66 cm en comparación al aceite de menta que mostró un grado de inhibición de 4.24%. Los aceites de cilantro y anís a la concentración de 0.15% no mostraron ninguna actividad antifúngica sobre el desarrollo de *P. olsonii*.

Con una concentración de 0.25% se observa que el aceite esencial de cebolla presentó durante todo el período de incubación una inhibición del 100% y mostró un efecto fungicida. A las 360 h, el anís continúa siendo el que presenta mayor inhibición con un crecimiento de colonia de 1.4 cm representando un grado de inhibición del 62.86% en comparación con los aceites de menta (60.74% de inhibición) y el aceite de cilantro (37.40% inhibición) y un crecimiento de colonia de 2.36 cm, siendo éste, el aceite que presentó la menor actividad antifúngica.

En cuanto a la concentración de 0.35% se observa que el aceite esencial de cilantro fue el que presentó una inhibición del 100%, durante todo el período de almacenamiento (360 h) y mostró una actividad fungicida. Los aceites de anís y de menta mostraron un efecto fungistático. Al finalizar el período de incubación (360 h), además del aceite esencial de cilantro que inhibió completamente el desarrollo de esta especie, el aceite esencial de menta fue el que presentó numéricamente un mayor efecto de inhibición con un crecimiento de colonia de 0.55cm y un efecto de inhibición del 85.41%, en comparación con el aceite de anís que inhibió un 80.11%.

Para la concentración de 0.45% el aceite de menta fue el que mostró el mayor efecto de inhibición (90.45%) con un crecimiento de colonia de 0.36 cm en comparación con el anís que permitió que las colonias alcanzaran un

diámetro de 0.98 cm representando un 74.01% de inhibición. Los aceites de anís y de menta mostraron un efecto fungistático.

Los resultados obtenidos en este estudio no concuerdan con los realizados por Soliman y Badeaa (2002) ya que mencionan que el aceite esencial de anís posee una actividad fungicida mostrando una completa inhibición para *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus* y *F. moniliforme* a una concentración probada de 500 ppm (0.05%).

Cuadro 34. Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de *P. olsonii* empleando 7 concentraciones diferentes durante un periodo de 360 horas.

Aceite Esencial	Concentración de Aceite Esencial (%)													
	0.1		0.05		0.025		0.15		0.25		0.35		0.45	
	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)
Testigo	3.77 a*		3.77 a											
Ajo	4.2 a ^z	0	--	--	--	--	0 b	100	--	--	--	--	--	--
Anís	3.95 a	0	--	--	--	--	4.43 a	0	1.4 c	62.8	0.75 b	80.1	0.98 b	74.1
Canela	0 e ^y	100	0 c	100	0.93 b	75.3	--	--	--	--	--	--	--	--
Cebolla	4.06 a	0	--	--	--	--	0.66 b	82.4	0 d	100	--	--	--	--
Cilantro	3.86 ab	0	--	--	--	--	4.16 a	0	2.36 b	37.4	0 c	100	--	--
Clavo	1.78 d ^x	52.7	--	--	--	--	0 b	100	--	--	--	--	--	--
Menta	3.31 b	12.2	--	--	--	--	3.61 a	4.2	1.4 c	60.7	0.55 c	85.4	0.36 c	90.4
Orégano	2.28 b	39.5	--	--	--	--	0 b	100	--	--	--	--	--	--
Tomillo	0e	100	2.06 b	45.3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

CC= Crecimiento de colonia; I= Grado de inhibición.

^x Fungistático; ^y Fungicida; ^z Sin efecto.

9.9 Prueba de actividad antifúngica *in vitro* de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de *Penicillium oxalicum*.

Los resultados obtenidos de las propiedades antifúngicas de los nueve aceites esenciales *in vitro* sobre el efecto inhibitorio de *P. oxalicum* muestran que en la dosis de 0.1% (Cuadro 35) los aceites que presentaron el mejor efecto antifúngico fueron el de canela y tomillo, observándose una inhibición del 100% durante todo el período de incubación (360 h).

Los aceites de canela y tomillo mostraron un efecto fungicida mientras que los aceites de ajo, anís, cebolla, cilantro, clavo, menta y orégano tuvieron un efecto fungistático.

Además de los aceites esenciales que inhibieron completamente el desarrollo de *P. oxalicum* (canela y tomillo), el aceite esencial de clavo fue el que presentó un mayor efecto de inhibición (71.05%) y un crecimiento de colonia de 1.08 cm en comparación a los aceites de: ajo con un diámetro de colonia de 2.41 cm representando un grado de inhibición de 35.39%, orégano (19.57% de inhibición), cilantro (18.77% de inhibición), de menta (15.55% de inhibición) y de anís (11.53% de inhibición).

Al emplear una dosis de 0.05%, se observa que los aceites esenciales de canela y tomillo presentaron una inhibición del 100% durante todo el período de incubación, no mostrando diferencias significativas entre sí. Ambos aceites mostraron una actividad fungicida. Estos resultados coinciden con lo reportado por Soliman y Badeaa (2002) quienes encontraron que la canela inhibió completamente el desarrollo de *A. flavus* en una dosis empleada de 500 ppm (0.05%). Los tres componentes del aceite de canela que han sido identificados como los agentes activos contra hongos son: aldehído cinámico (Bullerman, 1974), O-metoxicinamaldehído (Morozumi, 1978) y eugenol (Velluti *et al.*, 2003).

Para la dosis más baja (0.025%), el aceite esencial de tomillo fue el que presentó el mayor efecto de inhibición (68.90%) mientras que el aceite de canela mostró un menor efecto antifúngico presentando un grado de inhibición del 58.98%. Los aceites de canela y tomillo mostraron un efecto fungistático.

El aceite de ajo fue el que mostró la mayor actividad antifúngica a una dosis de 0.15%, permitiendo un crecimiento de colonia de 0.08cm, seguido de los aceites de clavo (1.2 cm), orégano (1.53 cm) y cebolla (2 cm). Los aceites de menta, cilantro y anís a una concentración de 0.15% no demostraron ningún grado de inhibición y por tanto no presentaron ninguna actividad antifúngica sobre el desarrollo de *P. oxalicum*. Los aceites de ajo, cebolla, clavo y orégano presentaron una actividad fungistática. A una concentración de 0.25%, se muestra que los aceites de ajo y orégano mostraron una inhibición del 100% durante todo el período de incubación (360 h). Comparando con los estudios realizados por Davidson y Parrish (1989) donde mencionaron que la actividad antimicrobiana del ajo se basa en la inhibición de la alicina sobre las enzimas sulhidríticas que poseen efecto sobre bacterias patógenas y hongos micotoxigénicos. Asimismo, Moreno (1988), menciona que fenoles: carvacrol y timol, contenidos en el orégano, poseen niveles altos de actividad contra microorganismos gram negativos, siendo el timol el más activo, así como Sivropoulou *et al.* (1996), demostraron con base en estudios realizados que el orégano tiene capacidad antifúngica contra *Candida albicans*, *C. tropicales*, *Turolopsis glabrata*, *A. niger*, *Penicillium*, *Geotrichum* y *Rhodotorula*.

Los aceites esenciales de ajo y orégano presentaron un efecto fungicida mientras que los aceites de anís, cebolla, cilantro y menta tuvieron un efecto fungistático. Además de los aceites esenciales que inhibieron completamente el desarrollo de *P. oxalicum* (ajo y orégano), el aceite de cebolla fue el que presentó mayor efecto inhibitorio permitiendo que las colonias alcanzaran un diámetro de 1.45 cm lo que representa un grado de inhibición de 61.13% en comparación con los aceites de anís con un diámetro de colonia de 1.93 cm (48.26% de inhibición), cilantro con 1.95 cm (47.72% de inhibición) y menta con 2.33 cm (37.53% de inhibición).

Al emplear una concentración de 0.35% se observa que el aceite de cilantro mostró un grado de inhibición del 100% durante las 360 h de incubación, así

como presentó una actividad fungicida mientras que los aceites de anís, cebolla y menta presentaron un efecto fungistático. Finalmente al terminar el período de incubación (360 h), el aceite esencial de menta fue el que presentó el menor crecimiento con un diámetro de colonia de 0.41 cm y un grado de inhibición de 89.28%, seguido del anís con 0.7 cm que representa un 81.23% de inhibición; para este período de incubación la cebolla pierde actividad antifúngica observando un crecimiento micelial de la colonia alcanzando un diámetro de 0.75 cm lo que significa que su efecto de inhibición es del 79.89% sobre el desarrollo de *P. oxalicum*. Mientras que, para una dosis de 0.45% se observa que a las 360 h de incubación el aceite de menta mostró una inhibición el 100% con una actividad fungicida. Los aceites esenciales de anís y cebolla presentaron un efecto fungistático. En un trabajo realizado por Edris y Farrad (2003), señalan que los constituyentes principales de la menta: mentol y linalol, bajo estudios realizados *in vitro*, inhibieron el crecimiento de *Rhizopus stolonifer* y de otros hongos fitopatógenos evaluados.

Al finalizar el período de incubación la cebolla mostró un crecimiento de 0.08 cm de diámetro de colonia, lo que representa una actividad antifúngica alta (97.86%) para las colonias de *P. oxalicum*. Mientras que finalmente el aceite de anís creció 1.03 cm lo que representa un 72.36% de inhibición para el desarrollo de *P. oxalicum*.

Cuadro 35. Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de *P. oxalicum* empleando 7 concentraciones diferentes durante un periodo de 360 horas.

Aceite Esencial	Concentración de Aceite Esencial (%)													
	0.1		0.05		0.025		0.15		0.25		0.35		0.45	
	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)
Testigo	3.73 a*		3.73 a		3.73 a		3.73 b		3.73 a		3.73 a		3.73 a	
Ajo	2.41 c ^x	35.5	--	--	--	--	0.08 e	97.8	0 d	100	--	--	--	--
Anís	3.3 ab	11.5	--	--	--	--	4.95 a ^z	0	1.9 bc	48.2	0.7 b	81.2	1.03 b	72.3
Canela	0 e ^y	100	0 b	100	1.53 b	58.9	--	--	--	--	--	--	--	--
Cebolla	2.8 bc	24.1	--	--	--	--	2 c	46.3	1.4 c	61.1	0.7 b	79.8	0.08 c	97.8
Cilantro	3.03 b	18.7	--	--	--	--	4.78 a	0	1.9 bc	47.7	0 c	100	--	--
Clavo	1.08 d	71.05	--	--	--	--	1.2 d	67.8	--	--	--	--	--	--
Menta	3.15 b	15.5	--	--	--	--	4.51 ab	0	2.3 b	37.5	0.4 bc	89.2	0 c	100
Orégano	3 e	19.5	--	--	--	--	1.53 cd	58.9	0 d	100	--	--	--	--
Tomillo	0e	100	0 b	100	1.16 bc	68.9	--	--	--	--	--	--	--	--

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

CC= Crecimiento de colonia; I= Grado de inhibición.

^x Fungistático; ^y Fungicida; ^z Sin efecto.

9.10 Prueba de actividad antifúngica *in vitro* de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de *Penicillium funiculosum*.

En el Cuadro 36, se muestra que a una dosis de 0.1% los aceites de canela, clavo y orégano mostraron una inhibición del 100%, asimismo presentaron un efecto fungicida. El clavo destaca en los estudios realizados por Farag *et al.* (1989), donde mencionan que la actividad antimicrobiana de éste aceite esencial se ha atribuido a la presencia de compuestos aromáticos y fenólicos como el eugenol. Conner y Beuchat (1984) señalan que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, puede ser el resultado del daño a los sistemas enzimáticos de la célula, incluyendo aquellos asociados con la producción y síntesis de los compuestos estructurales. Una vez que el compuesto fenólico cruza la membrana celular, puede interactuar con las enzimas o con las proteínas de la membrana causando un flujo contrario de protones a través de ella, afectando de esta manera la actividad celular. Nychas (1995) indicó que los compuestos fenólicos pueden desnaturalizar las enzimas responsables de la germinación de las esporas o intervenir con los aminoácidos involucrados en la germinación. Se observa también que el tomillo presentó el grado de inhibición más alto con un 54.55% en comparación con la menta que mostró un 16.45% de inhibición. Los aceites de ajo, anís, cebolla y cilantro no mostraron actividad antifúngica sobre el desarrollo de *P. funiculosum* a ésta concentración.

El aceite de clavo inhibió al 100% a una concentración de 0.05%, así como también mostró un efecto fungicida en tanto que los aceites de canela y orégano presentaron una actividad fungistática. El aceite esencial de orégano presentó un efecto de inhibición del 56.28% y el aceite de canela tuvo un grado de inhibición de 50.22% para el desarrollo micelial de *P. funiculosum* no observándose diferencias significativas entre ambos aceites.

A la concentración de 0.025% se muestra que el clavo permitió que la colonia creciera 1.15 cm representando 50.22% de inhibición sobre *P. funiculosum*

De los aceites que no mostraron una inhibición completa en la dosis inicial de 0.1%, se aumentó la concentración de éstos, a 0.15%. Los resultados muestran que los aceites que presentaron el mejor efecto antifúngico fueron el de ajo, cebolla y tomillo, observándose una inhibición del 100% durante las 360 h mostrando así una actividad fungicida. El aceite de menta presentó una inhibición baja del 9.96% y una actividad fungistática, en tanto que los aceites de cilantro y de anís no mostraron ningún grado de inhibición y por tanto no presentaron ninguna actividad antifúngica sobre *P. funiculosum*.

El aceite esencial de menta empleando una dosis de 0.25% fue el que obtuvo el mayor grado de inhibición (94.37%) en comparación con el cilantro (79.22% de inhibición) y por último el anís (50% de inhibición). Los tres aceites esenciales presentaron un efecto fungistático.

Con una concentración de 0.35% se muestra que los aceites de anís, cilantro y menta presentaron una inhibición del 100% durante todo el período de incubación (360 h). Asimismo, mostraron un efecto fungistático. Giese (1994) y Davidson (1996) mencionan que la seguridad de los alimentos se incrementa por el uso de antimicrobianos naturales, ya que estas sustancias se añaden a los alimentos para prevenir la descomposición microbiana. Wilkins y Board (1989) reportaron que aproximadamente más de 1340 plantas, son un recurso potencial de antimicrobianos.

Cuadro 36. Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de *P. funiculosus* empleando 7 concentraciones diferentes durante un periodo de 360 horas.

Aceite Esencial	Concentración de Aceite Esencial (%)											
	0.1		0.05		0.025		0.15		0.25		0.35	
	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)
Testigo	2.31 ab*		2.31 a		2.31 a		2.31 c		2.31 a		2.31 a	
Ajo	2.53 a ^z	0	--	--	--	--	0 d	100	--	--	--	--
Anís	2.8 a	0	--	--	--	--	3.25 a	0	1.15 b	50	0 b	100
Canela	0 d ^y	100	1.15 b	50.2	--	--	--	--	--	--	--	--
Cebolla	2.55 a	0	--	--	--	--	0 d	100	--	--	--	--
Cilantro	2.31 ab	0	--	--	--	--	2.9 b	0	0.48 c	79.2	0 b	100
Clavo	0 d	100	0 c	100	1.15 b	50.2	--	--	--	--	--	--
Menta	1.93 b ^x	16.4	--	--	--	--	2.08 c	9.9	0.13 d	94.3	0 b	100
Orégano	0 d	100	1.01 b	56.2	--	--	--	--	--	--	--	--
Tomillo	1.05 c	54.5	--	--	--	--	0 d	100	--	--	--	--

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

CC= Crecimiento de colonia; I= Grado de inhibición.

^x Fungistático; ^y Fungicida; ^z Sin efecto.

9.11 Prueba de actividad antifúngica *in vitro* de 9 aceites esenciales sobre el desarrollo de *Penicillium janthinellum*.

Los resultados obtenidos para *P. janthinellum* a una dosis de 0.1% (Cuadro 37) señala que el aceite esencial de canela mostró una inhibición del 100% durante todo el período de incubación mostrando así, un efecto fungicida. El aceite de clavo fue el que mostró el mayor efecto inhibitorio con un 93.09%, seguido del tomillo con 88.29% y del orégano con 70.72%. Los aceites de ajo, anís, cebolla, cilantro y menta no mostraron ninguna actividad antifúngica y por tanto ningún grado de inhibición para las colonias de *P. janthinellum*.

Al emplear una dosis de 0.05% la colonia mostró un crecimiento micelial de 2.65 cm presentando un moderado grado de inhibición de 60.21%. El aceite mostró una actividad fungistática.

Debido a que en esta concentración probada (0.05%), el aceite de canela no presentó una completa inhibición del hongo, ya no se bajo la dosis a 0.025%.

Se observa que empleando una concentración de 0.15%, los aceites de ajo, cebolla, clavo, orégano y tomillo mostraron un grado de inhibición el 100% y presentando todos una actividad fungicida a excepción del tomillo que presentó una efecto fungistático. Además de los aceites que inhibieron al 100%, los aceites que presentaron poco efecto inhibitorio fueron el anís con un 29.73%, seguido de la menta con 27.03% de inhibición. El aceite que no mostró ninguna actividad antifúngica sobre el desarrollo de *P. janthinellum*, fue el aceite de cilantro.

El aceite que presentó el mayor efecto de inhibición a una dosis de 0.25% fue el anís (70.27%) y un crecimiento de colonia de 1.98 cm, en comparación a los aceites de menta (53.75% de inhibición) y de cilantro (53% de inhibición).

Al emplear una concentración de 0.35% se observa que los aceites de anís y cilantro mostraron un efecto de inhibición del 100% durante las 360 h de incubación, asimismo mostraron una actividad fungistática, el aceite esencial

de menta mostró un mínimo desarrollo (0.23 a 0.33 cm) presentando un efecto inhibitorio del 95% y una actividad fungistática para las colonias de *P. janthinellum*.

El aceite de menta inhibió completamente (100%) con una dosis de 0.45%, presentando un efecto fungistático sobre el desarrollo de *P. janthinellum*. Prindle y Wrigth (1977), encontraron que el modo de acción de los compuestos fenólicos era dependiente de la concentración; a bajas concentraciones afectan la actividad enzimática relacionada con la producción de energía, mientras que a altas concentraciones causan la precipitación de las proteínas.

Cuadro 37. Efecto antifúngico de 9 aceites esenciales contra el desarrollo de *P. janthinellum* empleando 7 concentraciones diferentes durante un período de 360 horas.

Aceite Esencial	Concentración de Aceite Esencial (%)											
	0.1		0.05		0.15		0.25		0.35		0.45	
	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)	CC (cm)	I (%)
Testigo	6.66 a*		6.66 a									
Ajo	8.03 a ^z	0	--	--	0 c	100	--	--	--	--	--	--
Anís	9 a	0	--	--	4.68 b	29.7	1.98 b	70.2	0 c	100	--	--
Canela	0 c ^y	100	2.65 b	60.2	--	--	--	--	--	--	--	--
Cebolla	8.48 a	0	--	--	0 c	100	--	--	--	--	--	--
Cilantro	8.56 a	0	--	--	6.98 a	0	3.13 b	53	0 c	100	--	--
Clavo	0.46 bc ^x	93.0	--	--	0 c	100	--	--	--	--	--	--
Menta	6.98 a	0	--	--	4.86 b	27.03	3.08 b	53.7	0.33 b	95	0 c	100
Orégano	1.95 b	70.7	--	--	0 c	100	--	--	--	--	--	--
Tomillo	0.78 bc	88.2	--	--	0 c	100	--	--	--	--	--	--

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

CC= Crecimiento de colonia; I= Grado de inhibición.

^x Fungistático; ^y Fungicida; ^z Sin efecto.

X. CONCLUSIONES

- Se pudo determinar que las cepas predominantes en los granos de maíz provenientes de diferentes zonas productoras en la República Mexicana fueron del género *Fusarium*.
- Las especies del género *Fusarium* más frecuentes en las muestras analizadas fueron *F.graminearum*, *F.moniliforme* y *F.oxysporum*, agentes causales de enfermedades en la planta, reduciendo la calidad de los granos, además de ser productores de diversas micotoxinas.
- En la nuez pecanera procedente de distintas marcas comercializadas del municipio de Cuautitlán Izcalli se encontró que de los géneros más abundantes fue *Penicillium*.
- Las cepas del género *Penicillium*, identificadas a nivel de especie *P. olsonni*, *P. oxalicum*, *P. funiculosum* y *P. janthinelum* son capaces de producir bajo condiciones favorables una o más micotoxinas.
- Se confirma la hipótesis planteada debido a que el uso de plantas medicinales y aromáticas si ejercieron una acción antifúngica sobre las especies identificadas de los géneros *Fusarium* y *Penicillium* como se mostró en la prueba *in vitro* realizada.
- En cuanto a los porcentajes de inhibición sobre las tres especies del género *Fusarium*, los aceites esenciales de ajo y cebolla para las especies de *F. graminearum* y *F. oxysporum* inhibieron al 100% su desarrollo empleando una dosis de 0.25%, a esta misma dosis para *F. moniliforme*, los aceites que presentaron un 100% de inhibición fueron la cebolla y el cilantro. Al emplear una dosis de 0.35% sobre el aceite esencial de menta se observó un efecto de inhibición del 100% en *F. moniliforme*. Para la dosis máxima (0.45%) se presentó un efecto de inhibición al 100% sobre las especies de *F. graminearum* y *F. oxysporum* con los aceites de cilantro

y menta; mientras que al emplear las dosis mínimas probadas de 0.05% y 0.025% el aceite esencial de canela fue el que obtuvo el mayor poder antifúngico representando el 100% de grado de inhibición.

- En cuanto a los porcentajes del efecto de inhibición sobre las especies de *Penicillium*, los aceites de ajo y cebolla presentaron un 100% de inhibición para las dosis más altas: 0.15%, 0.25%, 0.35% y 0.45%; el aceite esencial de canela también presentó un efecto de inhibición total pero sólo en las concentraciones de 0.1% y 0.05% y empleando la dosis mínima de 0.05% el clavo fue el extracto que demostró una inhibición del 100% para las cuatro especies de *Penicillium* ensayadas.
- El único aceite esencial que no obtuvo un efecto de inhibición del 100% en las cepas de *Fusarium* y *Penicillium* empleadas para este estudio, aún utilizando la dosis más alta de 0.45%, fue el aceite de anís.
- La actividad antifúngica de los aceites esenciales fue dependiente del origen vegetal, las concentraciones utilizadas y las especies de hongos probadas.
- Las concentraciones utilizadas fueron relativamente bajas por lo que los alimentos que reciban este tratamiento no sufrirán de serias alteraciones en sus características organolépticas.
- Los datos obtenidos en este trabajo aportan conocimientos con respecto a la eficiencia práctica de la aplicación de aceites esenciales, sin efectos fitotóxicos, para proteger plantas o productos vegetales que puedan ser utilizados en la industria de alimentos.

- Nuestra investigación sustenta la posibilidad de implementar la aplicación de ciertos aceites esenciales para controlar patógenos en productos almacenados, tales como, *Fusarium spp.* y *Penicillium spp.*, bajo condiciones específicas de aplicación.

- La utilización de los aceites esenciales como aditivos para alimentos es una alternativa interesante porque presenta algunas ventajas con respecto a los compuestos de síntesis química empleados en la actualidad como antifúngicos.

- La Food and Drug Administration (FDA) de los EE.UU. considera a las plantas aromáticas y medicinales, así como a sus extractos, como sustancias generalmente reconocidas como seguras (GRAS del inglés Generally Recognized as Safe).

- Luego de un riguroso análisis de extractos naturales, podemos concluir que ellos ofrecen a la industria de alimentos una alternativa viable para ser aplicadas como conservantes naturales.

- Es necesario realizar un estudio del sistema, detectar las causas de deterioro y decidir sobre el producto a aplicar y en que dosis.

XI. RECOMENDACIONES

- Una vez sabiendo que tipo y que dosis de aceite esencial es apto para inhibir el crecimiento fúngico, se recomienda seguir con este estudio “*in vivo*” con la finalidad de comprobar si es factible para la industria de alimentos.
- Se recomienda realizar estudios en alimentos, para observar la efectividad de los componentes antimicrobianos, así como para determinar si las concentraciones necesarias afectan sensorialmente al producto.
- Se sugiere emplear a los aceites esenciales como conservadores y/o aditivos en la industria de alimentos ya que son productos naturales que confieren seguridad y salud a los consumidores.
- Si los aceites esenciales se emplean como conservadores para la industria en alimentos, se sugiere que se aplique por el método de aspersion, inmersión de biofilms (películas plásticas comestibles) o por un proceso de “impregnación” por saturación de vapor del aceite esencial ya que los alimentos sometidos a estos tratamientos no se verían afectados en sus propiedades organolépticas, en las dosis correctas.
- También se recomienda emplear a los aceites esenciales en dosis menores al 2%, ya que es la dosis máxima permitida por la Food and Drug Administration (FDA), para la elaboración de diversos alimentos y bebidas.

XII. REFERENCIAS CITADAS

A

Abdel -Hafez, A.J.J. y Saber, S. M.1993. "Mycoflora and mycotoxins of hazelnut (*Corylus avellanea* L.) and walnut (*Juglans regia* L.) seeds in Egypt. Zentralblatt für Microbiologie. 148:137-147pp.

Adel, Z.M.; Siham, M.M.; Ahmed, T.M.; Barakat, S.M. 2002. "Application of some apices in flavoring and preservation of cookies: 2. Antimicrobial and sensory properties of cardamom, cinnamom and clove". 98:261-265pp.

Agrios, G. 1998. "Fitopatología: Enfermedades de las plantas ocasionadas por hongos." Ed. Limusa. 356-360pp.

Aligiannis, N.; Kalpotzakis, E.; Mitaku, S.; Chinou, B. 2001. "Composition and antimicrobial activity of *Origanum* essentials oils". J. Agriculture Food Chemistry 44: 1202-1205pp.

Al-Jedah, J. H.; Ali, M.Z.; y Robinson, R.K. 2000. "The inhibitory action of spices against pathogens that might be capable of growth in a fish sauce (Mehiawah) from the Middle East". International Journal of Food Microbiology, 57: 129-133pp.

Aprifel, 2009 "<http://www.Aprifel.com/> propiedades de la cebolla."

Auger, J.; Dugrabort, S.; Naudin, A.; Abo-Ghalia, A.; Pierre, D.; y Thibout, E. 2002. "Potential of *Allium* allelochemicals for safe insect control". IOBC Bulletin, 25:9, 295pp.

B

Baerlocher, F.J.; Baerlocher, M.O.; Chaulk, C.L.; Langler, R.F.; y MacQuarrie, S.L. 2000. "Antifungal Thisulfonates: Potency with some Selectivity". A. J. Chemistry. 53: 399-402pp.

Bayoumi, S.1992. "Bacteriostatic effect of some spices and their utilization in the manufacture of yoghurt." Chemie Microbiologie Technologie Lebensmittel 14 : 21-26pp.

Belisario, A. ; Maccaroni, M. y Corazza, L. 2002. « Occurrence and ethiology of brown apical necrosis on Persian walnut fruit ». Plant Disease. 86 :599-602pp.

Beuchat, L. R. 1975. " Incidence in molds on pecan nuts at different points during harvesting". Applied Microbiology. 29 (6): 852-854 pp.

Beuchat, L.R.; y Golden, D.A. 1989. "Antimicrobials occurring naturally in foods." Food Technology.

Block, E.; Ahmand, S.; Catalfamo, J.L.; Jain, M.K.; y Apitz-Castro, R. 1986. "Antithombic Organosulfur Compounds from Garlic: Structural, Mechamistics, and Synthetic Studies". Journal of Chemistry Society. 108: 7045-7055pp.

Block, E. 1985. "The Chemistry of Garlic and Onions". Scientific American, 252: 114-119pp.

Booth, C. 1971. "The Genus *Fusarium*." CMI. Kew. 19-31pp.

Botanical, 1999 "http://www.botanical-online SL. 1999/el mundo de las plantas. htm."

Botanical, 2000 "http://www.botanical-online.com/medicinalscanela. htm."

Botanical, 2009 "http://www.botanical-online.com/medicinalstimo.htm."

Bravo, L., Bermudez, K. y Montes, R. 2009. "Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos" Informes de Investigación. Instituto de Biología (UNAM).

Bridge, D.C. W.; Cunningham, B.; Schierwater, R.; DeSalle; y Buss, L.W. 1992. "Class-level relationships in the phylum Cnidaria: evidence from mitochondrial genome structure". Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:8750-8753pp.

Bosquez-Molina, E.; Bautista-Baños, S.; Bautista-López, J. 2009. "Aceites esenciales: bioconservadores con alto potencial en la industria alimentaria." Alfa Editores Técnicos. Universidad Autónoma Metropolitana.

Buchanan, R.L.; y Phillips J. G. 1990. "Response surface model for predicting the effects of temperature, pH, sodium chloride content, sodium nitrite concentration and atmosphere on the growth of *Listeria monocytogenes*." Journal Food Protection. 53:370pp.

Bullerman, L.B. 1974. "Inhibition of aflatoxin production by cinnamon." Journal of Food Science 42:1107-1109 pp.

Bullerman, L.B. 1983. "Effects of potassium sorbate on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*." Journal Food Prot. 46:940pp.

C

Carretero, E. 2000. "Terpenos: aceites esenciales: Panorama Actual Medicamento." 24:1002-1006pp.

Castillo, M. 1998. "Producción de Orégano". Revista Expansión Comercial. Ediciones ADEX. 98:22-26pp.

Cavallito, C.J.; Buck, J.S.; y Suter, C.M. 1944. "Allicin, the Antibacterial Principle of *Allium sativum*. II. Determination of the Chemical Structure". Journal of Chemistry Society. 66:1952-1954pp.

Chami, N.; Bennis, S.; y Chami, F. 2005. "Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol in vitro and in vivo." Oral Microbiology Immunology. 106-111pp.

Christensen, C.M.; y Kaufmann, H.H.1969. "Grain storage. The role of storage fungi quality loss". University Minnesota Press.USA.153pp.

Colel, J. R. y Cox, H. R. 1981. " Handbook of Toxic Fungal Metabolites". Academic Press, NY.

Conner, D.E.1993. "Naturally occurring compounds." Cap. 13. En Antimicrobials in foods. 2a Ed. Davison, M.P. and Branen Incorporated. New York. 441-468pp.

Conner, D. E.; y Beuchat L. R.1984. "Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts". Journal Food Science. 49:429-434pp.

Cowan, M. M. 1999. "Plant products as antimicrobial agents". Clinique microbiology.10:564-582pp.

Cueto, W.M.C y Rivas M.C. 2007. "Determinación del efecto antifúngico del aceite esencial de orégano sobre el desarrollo de *Fusarium oxysporum* aislado de plantas de tomate". Facultad de Ciencias Biológicas. UANL. Nuevo León, México.

Culturismo, 2009: www.culturismowebs.es/la-maltodextrina.html

D

Daferera, D.J.; Ziogas, B. N.; Polissiou, M. G. 2003. "The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium spp.* and *Clavibacter michiganensis*. Crop. Prot. 22: 39-44pp.

Davidson, P. M. 1996. "Chemical preservatives and antimicrobial compounds". En: Doley, M.P; Beuchat, L.R.; Montville, T. J. Food Microbiology and Frontiers. Washington D. C. ASM Press.

Davidson, P. M.; y Parrish, M. E. 1989. "Methods for testing the efficacy of foods antimicrobials". Food Technology. 148 -155pp.

Delaquis, P. J.; Stanich, K.; Girard, B.; y Mazza, G. 2002. "Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander, and eucalyptus essential oils". International Journal of Food Microbiology. 74: 101-109pp.

De León, C. 1984. " Enfermedades del maíz. Una guía para su identificación en el campo". CIMMYT. México, D. F. 114pp.

Delgado, B.; Fernández, A.; Periago, P. 2003. "Effect of thymol and cymene on *Bacillus cereus* vegetative cells evaluated through the use of the frequency distributions". Food Microbiology. 327-334pp.

Desjardins, A.E; y Proctor, R.H. 2001. "Biochemistry and genetics of *Fusarium* toxins." En: *Fusarium*. Summerell B.A., eds. APS Press. 122 – 137pp.

Didry, N.; Pinkas, M.; y Dubreuil, L.1987. "Actividad antibacteriana de especies del género *Allium*." Pharmazie, 42:687-688pp.

Doupnik, B. Jr. y Bell, D. K. 1971. " Toxicity of chicks of *Aspergillus* and *Penicillium* species isolated from moldy pecans". Applied Microbiology. 21:1104-1106 pp.

Draughon, F. A. 2004. "Use of botanicals as biopreservatives in foods." Food Technology. 58: 20-28pp.

Duke, J.A. 1985. "Handbook of medicinal herbs". CRC Press Inc.USA.

Durán, N. 2006. "Plantas medicinales: identificación y propiedades." Geostel S.A. Barcelona.

E

Edris, A.E.; y Farrad, E. S. 2003. "Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic from the vapor fase". Narungh Food. 2:117-121pp.

Edwards, S.G.; O'Callaghan, J.; y Dobson, A. 2002. "PCR-based detection and quantification of mycotoxigenic fungi." Mycological Research. 106: 1005-1025pp.

Eklund, T.1989. "Organic acids and esters". En: Mechanisms of action food preservation procedures. G.W. Gould. Ed. Elsevier Applied Science. London. 161-200 pp.

Elgayyar, M.; Draughon, F.; Golden, D.A.; y Mount, J. R. 2001. "Antimicrobial activity of essentials oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms". Journal Food Protect. 64: 1019-1024pp.

Elnima, E.I.; Ahmed, S.A.; Mekawwi, A.G.; y Mossa J.S. 1983. "The antimicrobial activity of garlic and onion extracts". Pharmazie. 38:747-748pp.

Ericksen, G.S.; y Alexander, J.1998. "Fusarium toxins in cereals- a risk assessment". Copenhagen Nordic, 146pp.

F

FAO, 2001 "[http://www.FAO.org/producción maiz.html](http://www.FAO.org/producción_maíz.html)."

Fandohan, P., Gnonlonfin, B., Hell, K., Wingfield, M.J. 2005. "Natural occurrence of *Fusarium* and subsequent fumonisin contamination in preharvest and stored maize in Benin, West Africa" Journal of Food Microbiology. 173-183pp.

Farag, R.S.; Daw, Z. Y.; y Abo-Raya, S.H. 1989. "Influence of some spice Essentials oil son *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium". Journal of Food science. Vol. 54.74-76pp.

Fonnegra, R.; y Jiménez, S. 2006. "Plantas medicinales aprobadas en Colombia." Editorial Universidad de Antioquía.

Frisvad, J.C. 1981. "Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric *Penicillia*". Applied and Environmental Microbiology. 45: 68-579pp.

G

García, C.; Quezada, V.M.Y.; Moreno, L.J.; Sánchez, H.G.; Moreno, M.E. y Pérez, R.M.C.J. 2006. “Actividad Antifúngica de Aceites Esenciales de Canela y Orégano y su Efecto Sobre la Producción de Aflatoxinas en Nuez Pecanera.” Revista Mexicana de Fitopatología. Vol.26. 15pp.

Gernot, K. 2005. “Garlic (*Allium sativum*).” Spice Pages. USA.

Giese, J. 1994. “Antimicrobials: assuring food safety.” Food Technology.102-10pp.

Gilly, G.; Garnerero, J.; y Racine, P. 1986. “Menta y Pimienta. Composición química y análisis de cromatografía”. Perfumes, Cósmeticos y Aroma. 71pp.

Gould, G.W. 1996. “Industry perspectives on the use of naturals antimicrobials and inhibitors for food applications”. Journal of Food Protection. 82-86pp.

Graham, H.D.; y Graham, E.J.F. 1987. “Inhibition of *Aspergillus parasiticus* growth and toxin production by garlic”. Journal Food Safety. 8:101-108pp.

Grainge, M.; y Ahmed, S.1988. “Handbook of plants with pest control properties”. John Wiley and Sons. USA. 470pp.

Grupoalta, 2009 “<http://www.grupoalta.com/lo-que-ofrecemos/nuez.shtml>”

Günther, E. 1948. “The Essential Oils”. Vol. 1: History and origin in Plants Production Analysis. Krieger Publishing: New York, USA.

Guynot, M.E.; Marín, S.; Setó, L.; Sanchis, V.; y Ramos, A.J. 2005. “Screening for antifungal activity of some essential oils against common spoilage fungi of bakery products”. Food Science and Technology International. 11: 25-32pp.

Gvdbiotech, 2009 “<http://www.gvdbiotech.com/amibafintro.htm>”

H

Harrellnut, 2009 “<http://www.harrellnut.com>”

Harpaz, S.; Glatman, L.; Drabkin, V.; y Gelman, A. 2003. “Effects of herbal essential oils used to extend the storage life of freshwater-reared Asian sea bass fish”. Journal Food Protection. 66: 410-417pp.

Herrera T. y Ulloa M., 1990. “El reino de los hongos”. Ed. Fondo de Cultura Económica, México. 552 pp.

Hipernatural, 2009 “<http://www.hipernatural.com/es/pltcilantro.html>”

Hitokoto, H.; Morozumi, S.; Wauke, T.; Sakai, S.; y Kurata, H. 1978. En: García M.R. 2006. “Efecto de la concentración de sorbato de potasio, vainillina y extracto de canela sobre el crecimiento de *Aspergillus parasiticum* y *Penicillium digitatum*”. Tesis. Universidad de las Américas, Puebla.

Hitokoto, H.; Morozumi, S.; Wauke, T.; Sakai, S.; y Kurata, H. 1980. "Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi." *Applied Enviroment Microbiology*. 39: 818-22pp.

Hughes, E.G. y Lawson, L.D. 1991 "Antimicrobial effects of *Allium sativum* L. (Garlic), *Allium ampeloprasum* L. (Elephant Garlic), and *Allium cepa* L. (Onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products." *Phytotherapy Research* (5): 154-158pp.

I

Infoagro, 2009 "<http://www.infoagro.com/aromaticas/cilantro.htm>"

Infoagro, 2009 "<http://www.infoagro.com/el cultivo del Maíz>"

Infoagro, 2009 "http://www.infoagro.com/frutas/frutos_secos/nogal2.htm"

J

Jay, J.M y Rivers, G.M. 1984. "Antimicrobial activity of some food flavoring compounds." *Journal Food Safety*. 6:129-139pp.

Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F. y Donoghue, M.J. 2002. "Secondary Plant Compounds". En: *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach*. 2nd. ed. Sinauer Axxoc.4:115-116pp.

Jullien, F, Voirin, B, Bernillon, J y Favre, J- Bombin. 1984 "Highly oxygenated flavones from *Mentha pipireta* ." *Phytochemistry*, 23pp.

K

Karapinar M. 1985. "The effects of citrus oils an some spices on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999." *Int. Journal Food Microbiol*. 2:239-45pp.

Kent N.L. 1987. "Tecnología de los Cereales." Traducido por Mariano González Alonso. Ed. Acribia Zaragoza. España.

Klich M.A. 2002. "Identification of common *Aspergillus* species". Central bureay voor Schimmelealtures, Utrecht. The Netherlands. 116 pp.

Kubo I, Fujita K, Kubo A, Nihei K, Ogura T. 2004. " Antibacterial Activity of Coriander Volatile Compounds against *Salmonella choleraesuis*." *Journal of Agriculture Food Chemestry*. 52 (11), 3329-3332pp.

Kyung, K.H. y Lee, Y.C. 2001. "Antimicrobial Activities and Sulfur Compounds Derived from S-alk(en)yl-L-Cysteine Sulfoxides in *Allium* and *Brassica*". *Food Rev. Int.*, 17(2), 183-198pp.

L

Lacey, 1994. *Aspergilli* en Feeds and Seeds. En: Powell, A.K., Renwick, A. y Peberdy, J.F. (Eds) "The genus *Aspergillus* from taxonomy and genetics to industrial application". Plenum Press, New York and London. 73-114pp.

Lacey, J. y Mangan, N. 1991. Fungi in cereal grains: Their occurrence and water and temperature relationships. En Chelkowski, J. Cereal grain micotoxinas, fungi and quality in drying and storage. EL SEVIERSSCIENCE Publishers. New York. 77-118pp.

Lacey J. 1989. "Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products." Journal of Applied Bacteriology, Simposium Supplement: 11S - 25Spp.

Lanciotti, R.A.; Gianotti, A.; Patrignani, F.; Belletti, N.; Guerzoni, M.E.; Gardini, F.2004. "Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits." Food Science and Technology 15, 201-208pp.

Lamaison, J.L, Carnal, A.P y Carnal, A. 1987. "Differentiation des menthes poivrées, *Mentha piperita*, Plantes Méd." Phytother. 21pp.

Lambert, R.J.W.; Skandamis P.N.; Coote, P.; Nychas, G.J.E. 2001. "A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol, and carvacrol." Journal of Applied Microbiology 91, 453-462pp.

Leewellyn,G .C., Burkett, M. L. y Eadie, T. 1981. "Potential mold growth, aflatoxin production and antimycotic activity of selected natural spices and herbs." Journal Assoc. off Anal. Chem. 64:955-960pp.

Leistner L.1992. "Food preservation by combined methods." Food Res.Int. 25: 151-158pp.

Leuschner, R.G.K. y Zampanini, J. 2002. "Effects of spices on growth and survival of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in broth model systems and mayonnaise". Food Control 13, 399-404pp.

Lizcano G. 2007. "Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) contra *Botrytis cinérea*, *Fusarium Oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*" Tesis. Universidad Javeriana Bogota D.C.

López, A., López, S., Vázquez, M., Rodríguez, S., Mendoza, M. y Padrón, E. 2005. "Inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* mediante extractos" Revista Mexicana de Fitopatología. Vol.23. Núm. 002.183-190pp.

López, L.2006. "Usos terapéuticos del tomillo." Revista de Ámbito Farmacéutico: fitoterapia. Vol 25. Núm 1.

Llorens, A., Mateo, R., Hinojo, M.J. Valle-Alagarra, F.M. y Jiménez, M. 2004. "Influence of environmental factors on the biosynthesis of type B trichothecenes by isolates of *Fusarium spp.* from Spanish crops". International Journal of Food Microbiology. 94: 43-54pp.

Lück, E. y Jager M. 1997. "Antimicrobial Food Additives." Spronger-Verlag, Germany.

M

Madrid, A.V.; y Cenzano del Castillo, I. 2003. "Helados: elaboración, análisis y control de calidad". AMV Ediciones. España.123pp.

Marasas, W.F.O., Nelson y Tousson.1984. "Toxigenic *Fusarium* Species: Identity and Mycotoxicology."The Pennsylvania State University Press. University Park.

Marasas W.F.O., Nelson y Tousson. 2001. "Toxigenic *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification". The Pennsylvania State University Press. University Park and London.

Mazza y Miniati, 1993. En: García M.R. 2006. Efecto de la concentración de sorbato de potasio, vainillina y extracto de canela sobre el crecimiento de *Aspergillus parasiticum* y *Penicillium digitatum*. Tesis. Universidad de las Américas Puebla.

Miller, J. D. y Trenholm, H. L. 1994. "Mycotoxins in grain compounds other than aflatoxin". Eagan Press, Minnesota.

Montes-Belmont, R.1996. "Productos naturales de origen vegetal para el combate de fitopatógenos. Revista mexicana de fitopatología. Vol. 14. 9-14pp.

Morales-López, J. 1999. "Efecto bacteriostático de aceites esenciales de ajo y cebolla sobre dos microorganismos presentes en carne." Tesis, Maestría en Biotecnología UAM-I

Moreno Martínez, E. 1988. "Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados." UNAM. México.

Morozumi, S. 1978. "Isolation, purification and antibiotic activity of o-methoxycinnamaldehyde from cinnamon." Applied environmental microbiology. 36: 577-583 pp.

Mulas, M.; Bicchi, C.; Mulas, G.; del Vais, E. 2004. "Leaf essential oil composition from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) new cultivar." Italus Hortus 11(4), 218-221pp.

Muñoz, F. 2002. "Plantas medicinales y aromáticas". Estudio, cultivo y procesado. Madrid: Mundi-Prensa.

N

Nychas GJE. 1995. "Natural antimicrobials from plants." En *New Methods of Food Preservation*. GW Gould (Ed.). Blackie Academic and Profesional. Glasgow. Escocia. 58-89pp.

O

Ohlsson T. 1994. "Minimal-processing-preservation methods of the future: an overview." *Trends Food Scientist Technology* 5:341-44pp.

P

Peterson, J. K. 2005. "*Carya illinoensis* (wangeh) K. Koch. Pecan" http://www.na.fs.fed.us/pubs/silvics_manual/volume_2/carya/illinoensis.htm

Petrone, P.V.2002. "Formulación de mermeladas con concentración reducida de azúcar utilizando antimicrobianos naturales y sistemas antimicrobianos activados por luz ultravioleta de onda larga." Tesis de Maestría. Universidad de las Américas Puebla.

Pitt, J.I y Hocking A.D. 1997. "Fungi and Food Spoilage." 2° ed. Blackie Academic & Professional, London.

Pitt, J.I. 1980. "The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*." Academic Press, London.

Pitt, J.I y Leistner, L. 1991. "Toxigenic *Penicillium* species." En: *Mycotoxins and Animal Foods*. Smith JE, Henderson RS, editores. CRC Press. 81-99pp.

Prindle, R. F. y Wright, E. S. 1977. "Phenolics compounds". En: *Desinfectons, sterilization and preservation*. S.S. Block. Ed. Lea y Febiger. Philadelphia.

Portalgastronomico,2009"http://portalgastronomico.com/El_Rebost/Frutas/FrutosSecos/Pacana.htm"

R

Reineccius, G. 1994. "Source book of flavors". Chapman & Hall. New York, USA. 928pp.

Richard, K.; Carl A. Batt y Pradip D. Patel. 2000. "Encyclopedia of food microbiology." Vol.2. Academic Press, New York. 901pp.

Roller, S.1995. " The quest of natural antimicrobials as novel means of food preservation". *International Biodeterioration and Biodegradation*. 36: 333-345pp.

Russell N.J, Gould GW. 1991. "Factors affecting growth and survival." En : *Food Preservatives*. NJ Russell & GW Gould (Eds.). Blackie & Son Ltd. Glasgow. Escocia. 13-21pp.

S

Sabahat S y Perween T. 2007. "Antibacterial Activities Of *Emblca Officinalis* And *Coriandrum Sativum* Against Gram Negative Urinary Pathogens Pak". Journal Pharmacie Scientist- 20(1), 32-35pp.

Salazar R.G. S., 2008. "El cilantro (*Coriandrum sativum*) como planta medicinal emergente." infarmate No. 17. Puebla.

Samson, R.A. y Pitt, J.I. 1990. "Modern Concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* Clasification". Plenum Press. New York. 113-179pp.

Sanguinetti, R.A. 2009. "Usos alternativos del maíz". Programa de Maíz y Soja de Alto Valor Monsanto. Idia XXI. 15pp.

Sauer, D.B.1992. "Storage of cereal Grains and their Products." 4th edition. American Association of Cereal Chemists. USA. 347pp.

Schroeder, H. y Cole, R.J. 1977. "Natural occurrence of alternariols in discoloured pecans". Journal of Agriculture and Food Chemistry. 25: 204-206pp.

Seifert, K. 2001. "*Fusarium* and anamorph generic concepts." En: *Fusarium*. Summerell B.A, eds. APS Press. 15 – 28pp.

Senatore, F. 1996. "Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus poligioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy)." Journal of Agricultural and Food Chemistry 44, 1327-1332pp.

Shelef, L.A. 1983. "Antimicrobial effects of spices." Journal Food Safety. 6:29-44pp.

Shimada. 1991. En: García M.R. 2006. "Efecto de la concentración de sorbato de potasio, vainillina y extracto de canela sobre el crecimiento de *Aspergillus parasiticum* y *Penicillium digitatum*." Tesis. Universidad de las América Puebla.

Singh, U.P., Prithiviraj, B., Wagner, K.G. y Plank- Schumacher, K. 2002. "Effect of Ajoene, a constituent of Garlic (*Allium sativum*), on Powdery Mildew (*Erysiphe pisi*) of pea (*Pisum sativum*)." Journal Pl. Dis. Prot., 102(2), 399-406pp.

Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M.1996. " antimicrobial and cytotoxic activitys of *Origanum* essentials oils. J. Agriculture Food Chemistry.49:4168-4170pp.

Small, L.D.; Bailey, J.H. y Cavallito, C.J. 1949. "Comparison of Same Properties of Thiosulfonates and Thiosulfinates". Journal Am. Chem. Soc. 71, 3565-3566pp.

Smith, I. 2002. "Manual de enfermedades de las plantas." Ediciones mundi- prensa. Madrid España.

Soliman K.M. y Badeaa R.I. 2002 "Effect of oil extracted from some medicinal plants on different micotoxigenic fungi". Food and Chemical Toxicology. 1669-1675 pp.

T

Terao, K y Ohtsubo, K.1991. Biological activities of myxotoxins: field and experimental mycotoxicoses. pp. 455-497 en: Mycotoxins and Animal Foods. Smith JE, Henderson RS, editores. CRC Press.

Teviotdale, B. L., Michailiades, T. J. y Pscheiteviotdale, J. W. 2002. "Compendium of nut crop. Diseases and temperate zones". APS Prees. The American Phytopathological Society. 100pp.

Thompson D.P. 1986. "Effect of essential oils on spore germination of *Rhizopus*, *Mucor* and *Aspergillus* species." Mycologia. 78: 482-85pp.

Tiznado-Hernández, M-E. Troncoso-Rojas, R. 2006. "Control of fungal diseases with isothiocyanates." Stewart Postharvest Review 1:4 DOI:10.2212pp.

U

USDA, N. 2006. "The Plants Database" 6 March 2006.

Ultee, A., Bennik, M., Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food- Borne pathogen *Bacillus cereus*. Applied and environmental microbiology, 1561-1568pp.

V

Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A.J. Ejido, J. y Marín, S. 2003. "Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemon grass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grains." Journal of food microbiology 89:145-154 pp.

W

Warham E.J., Butler L.D. y Satton B.C. 1994. "Ensayos para la Semilla de Maíz y de Trigo- Manual de Laboratorio". CIMMYT. Texcoco, México.

Webster, J. 1986. "Introduction to Fungi." 2° ed. Cambridge University Press.

WHO. 1990. "World health organization Monographs on Selected Medicinal Plants" Volume 1. 295 pp.

Wikipedia, 2009 "http://www.wikipedia.org/wiki/extraction_fragrance"

Wilkins, K.M. y Board, R.G. 1989. "Natural antimicrobial systems. En: Mechanisms of action of food preservation procedures."Elsevier Applied Science. London.285-365pp.

Wilson, C.L.; Solar, J.M.; El Ghaouth, A.; Wisniewski, M.E. 1997. "Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*." Plant Disease 81(2), 204-210pp.

Wuryatmo, E., Klieber A. y Scott, E. 2003. "Inhibition of citrus postharvest pathogens by vapor of citral and related compounds in culture." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (9), 2637-2640pp.

ANEXOS

ANEXO 1. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

MATERIALES

- . Matraz Erlenmeyer (de 1L)
- . Tapones de gasa
- . Papel Aluminio
- . Autoclave
- . Balanza Analítica
- . Pipetas
- . Cajas Petri
- . Medio de cultivo (Agar Papa Dextrosa, PDA y Malta Sal Agar, MSA)
- . Agua destilada

PROCEDIMIENTO

- En un matraz Erlenmeyer (de 1L) se agregó 23.4g del medio de cultivo (PDA ó MSA) y 600mL de agua destilada.
- Los matraces se taparon con tapones de gasa y papel aluminio.
- Posteriormente se sometieron a esterilizar en la autoclave por 20 minutos a una $P= 1.5 \text{ kg/ cm}^2$.
- Una vez esterilizados los matraces se dejaron enfriar.
- Finalmente se vaciaron en cajas petri, obteniendo así medios de cultivo.

ANEXO 2. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO CON ACEITES ESENCIALES

MATERIALES

- . Matraz Erlenmeyer (de 1L)
- . Tapones de gasa
- . Papel Aluminio
- . Autoclave
- . Balanza Analítica
- . Pipetas
- . Cajas Petri
- . Medio de cultivo (Agar Papa Dextrosa)
- . Agua destilada
- . Aceites Esenciales

PROCEDIMIENTO

- En un matraz Erlenmeyer se agregó 23.4g de Agar Papa Dextrosa y 600mL de agua destilada.
- Los matraces se taparon con tapones de gasa y papel aluminio.
- Posteriormente se sometieron a esterilizar en la autoclave por 20 minutos a una $P= 1.5 \text{ kg/ cm}^2$.
- Una vez esterilizados los matraces se dejaron enfriar para poder agregarles respectivamente, con la ayuda de una pipeta, un aceite esencial (la cantidad de aceite varia respecto a la concentración deseada).
- Finalmente se vaciaron en cajas petri estériles, obteniendo así medios de cultivo con diferentes concentraciones de aceites esenciales (ajo, anís, canela, cebolla, cilantro, clavo, menta, orégano y tomillo).

ANEXO 3. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *PENICILLIUM*.

MATERIALES

Czapek extracto de levadura autorizado agar (CYA).

Reactivo	Cantidad
K ₂ HPO ₄	1.0g
Czapek concentrado	10.0 mL
Extracto de levadura	5.0g
Sucrosa o sacarosa	30.0g
Agar	15.0g
Agua destilada	1000 mL

Extracto de malta agar (EMA).

Reactivo	Cantidad
Extracto de malta	20.0g
Peptona	1.0g
Glucosa o dextrosa	20.0g
Agar	15.0g
Agua destilada	1000 mL

Glicerol 25% nitrato agar (G25n)

Reactivo	Cantidad
K ₂ HPO ₄	0.75g
Czapek concentrado	7.5 mL
Extracto de levadura	3.7g
Glicerol grado analítico	250g
Agar	12.0g
Agua destilada	1000 mL

PROCEDIMIENTO

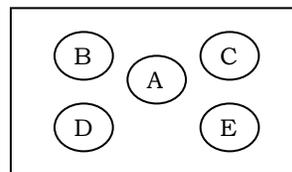
- En un matraz Erlenmeyer se agregaron los reactivos en las cantidades que se muestran para cada uno de los medios de cultivo.
- Los matraces se taparon con tapones de gasa y papel aluminio.
- Posteriormente se sometieron a esterilizar en la autoclave por 20 minutos a una $P= 1.5 \text{ kg/ cm}^2$.
- Una vez esterilizados los matraces se dejaron enfriar.
- Finalmente se vaciaron en cajas petri, obteniendo así los distintos medios de cultivo.

ANEXO 4. DESARROLLO DE COLONIAS DE *FUSARIUM* EMPLEANDO VARIOS TRATAMIENTOS DE ACEITES ESENCIALES.

➤ *Fusarium graminearum*

[0.1%]

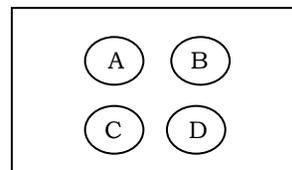
* Sin efecto



- A. Control
- B. Cebolla
- C. Anís
- D. Cilantro
- E. Ajo

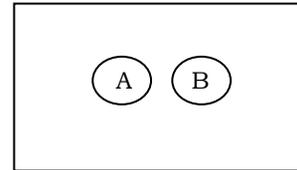
[0.15 y 0.05%]

*Sin efecto



- A. Control
- B. Menta
- C. Anís
- D. Cilantro

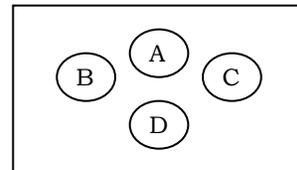
*Efecto fungistático



A. Ajo

B. Cebolla

*Efecto fungicida



A. Control

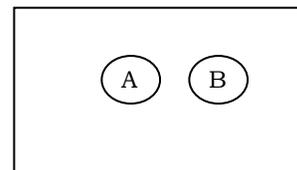
B. Canela

C. Clavo

D. Tomillo

[0.25 y 0.025%]

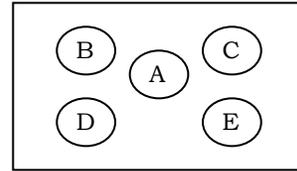
*Sin efecto



A. Control

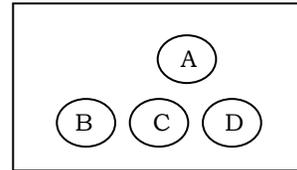
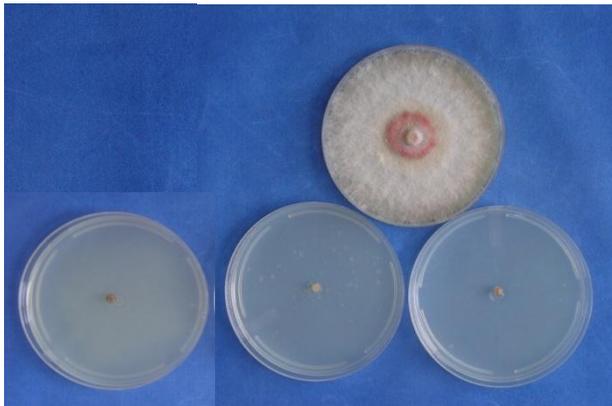
B. Cilantro

*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Anís
- C. Tomillo
- D. Orégano
- E. Menta

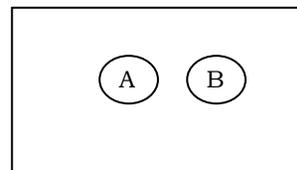
*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Canela
- C. Cebolla
- D. Ajo

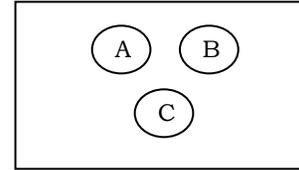
[0.35%]

*Sin efecto



- A. Control
- B. Cilantro

*Efecto fungistático



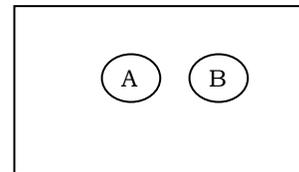
A. Control

B. Anís

C. Menta

[0.45%]

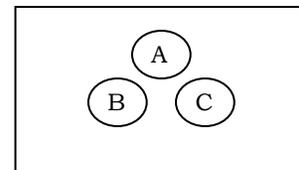
*Efecto fungistático



A. Control

B. Anís

*Efecto fungicida



A. Control

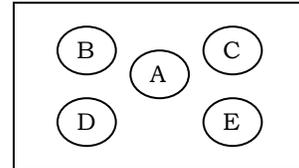
B. Menta

C. Cilantro

➤ ***Fusarium moniliforme***

[0.1%]

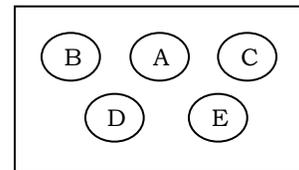
*Sin efecto



- A. Control
- B. Cilantro
- C. Cebolla
- D. Ajo
- E. Anís

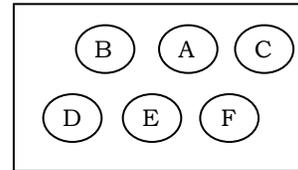
[0.15 y 0.05%]

*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Menta
- C. Cilantro
- D. Cebolla
- E. Anís

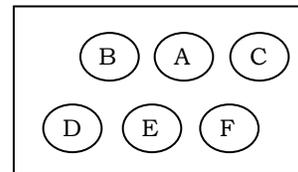
***Efecto fungicida**



- A. Control
- B. Clavo
- C. Tomillo
- D. Canela
- E. Orégano
- F. Ajo

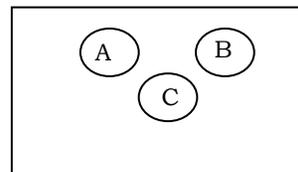
[0.25 y 0.025%]

***Efecto fungistático**



- A. Control
- B. Anís
- C. Canela
- D. Clavo
- E. Menta
- F. Tomillo

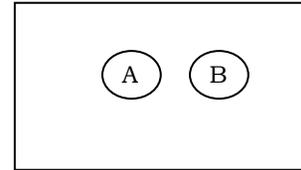
***Efecto fungicida**



- A. Control
- B. Cebolla
- C. Cilantro

[0.35%]

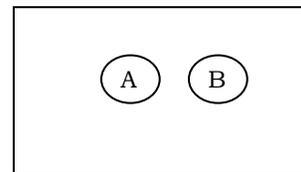
*Efecto fungistático



A. Control

B. Anís

*Efecto fungicida

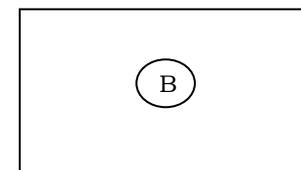


A. Control

B. Menta

[0.45%]

*Efecto fungistático



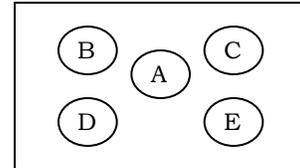
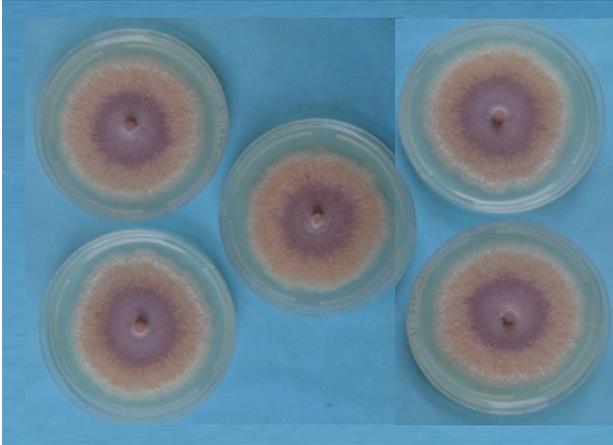
A. Control

B. Anís

➤ ***Fusarium oxysporum***

[0.1%]

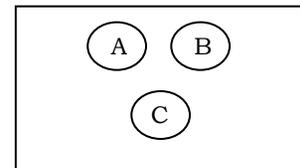
*Sin efecto



- A. Control
- B. Cilantro
- C. Menta
- D. Ajo
- E. Anís

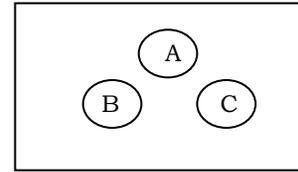
[0.15 y 0.05%]

*Sin efecto



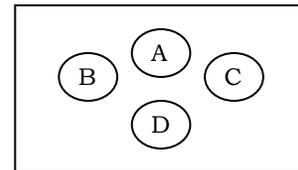
- A. Control
- B. Anís
- C. Cilantro

***Efecto fungistático**



- A. Control
- B. Menta
- C. Orégano

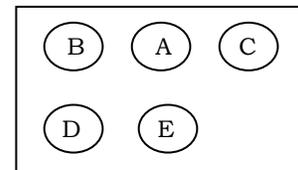
***Efecto fungicida**



- A. Control
- B. Canela
- C. Clavo
- D. Tomillo

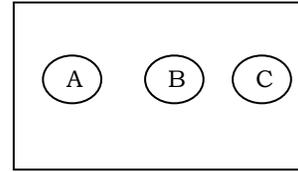
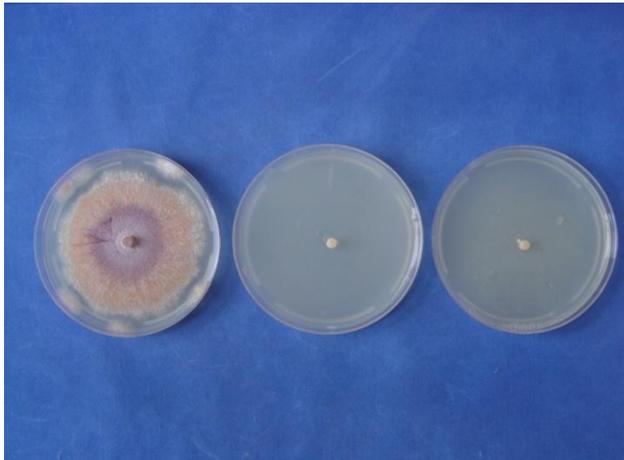
[0.25 y 0.025%]

***Efecto fungistático**



- A. Control
- B. Canela
- C. Menta
- D. Cilantro
- E. Anís

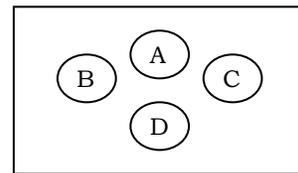
*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Ajo
- C. Cebolla

[0.35%]

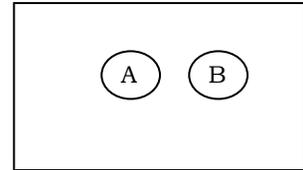
*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Cilantro
- C. Anís
- D. Menta

[0.45%]

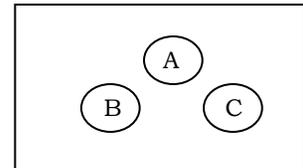
*Efecto fungistático



A. Control

B. Anís

*Efecto fungicida



A. Control

B. Cilantro

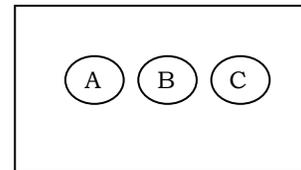
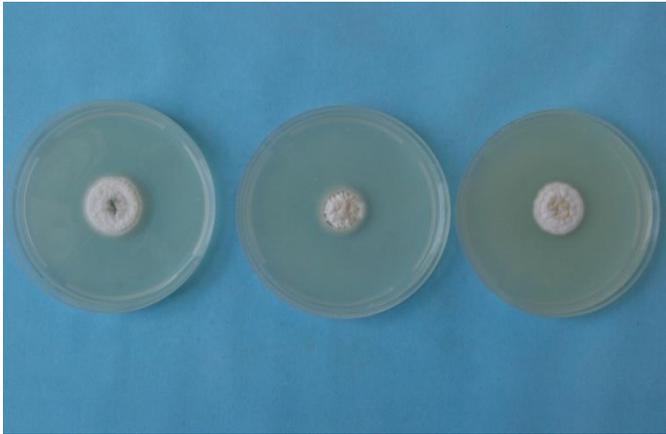
C. Menta

ANEXO 5. DESARROLLO DE COLONIAS DE *PENICILLIUM* EMPLEANDO VARIOS TRATAMIENTOS DE ACEITES ESENCIALES.

➤ *Penicillium olsonii*

[0.1%]

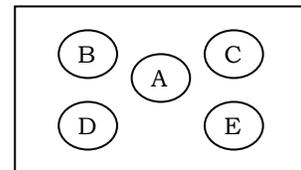
*Sin efecto



- A. Control
- B. Ajo
- C. Cebolla

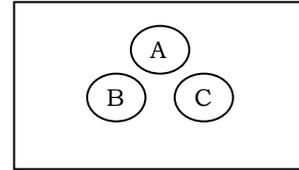
[0.15 y 0.05%]

*Sin efecto



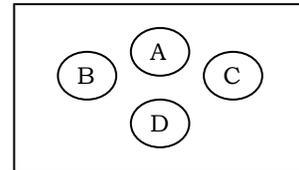
- F. Control
- G. Cilantro
- H. Anis
- I. Cebolla
- J. Ajo

***Efecto fungistático**



- A. Control
- B. Tomillo
- C. Menta

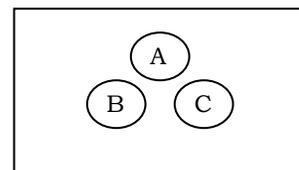
***Efecto fungicida**



- A. Control
- B. Canela
- C. Clavo
- D. Orégano

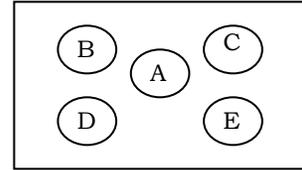
[0.25 y 0.025%]

***Sin efecto**



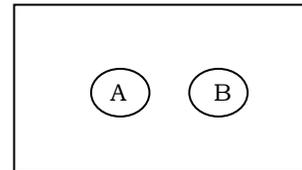
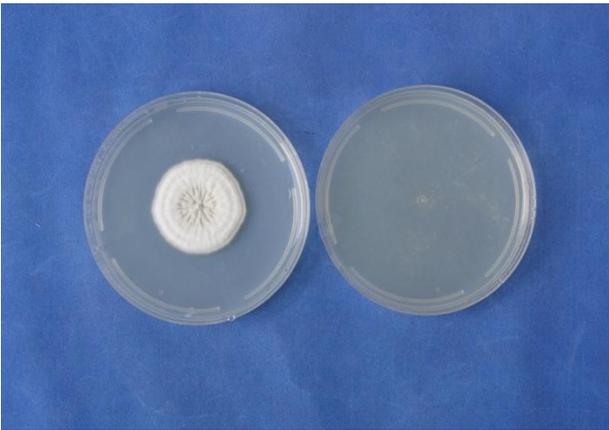
- A. Control
- B. Cebolla
- C. Ajo

*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Menta
- C. Anís
- D. Canela
- E. Cilantro

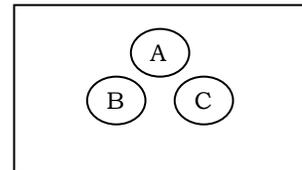
*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Clavo

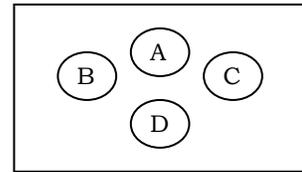
[0.35%]

*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Ajo
- C. Cebolla

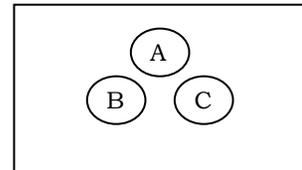
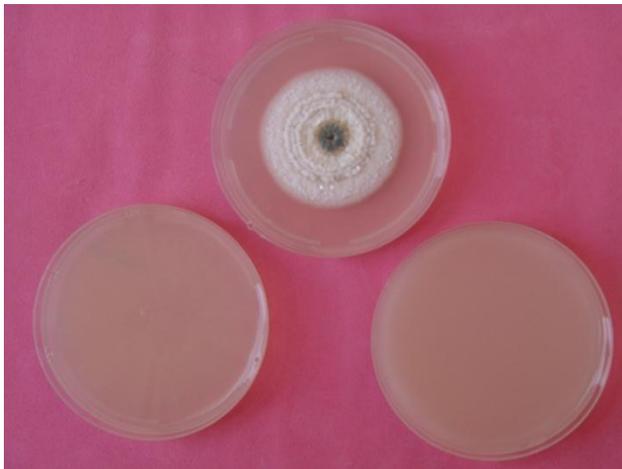
*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Anís
- C. Cilantro
- D. Menta

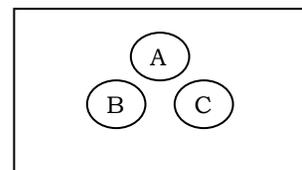
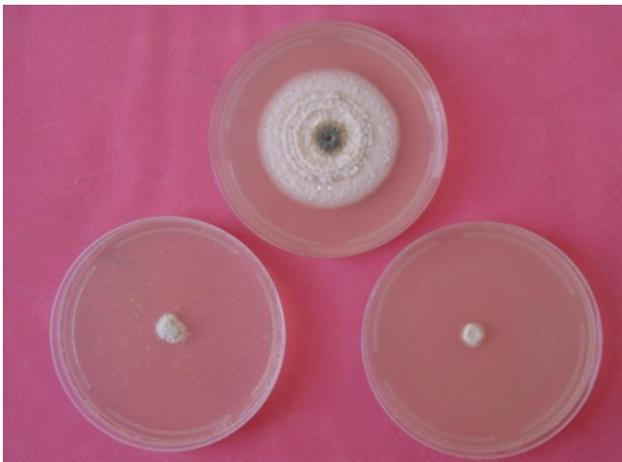
[0.45%]

*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Ajo
- C. Cebolla

*Efecto fungistático

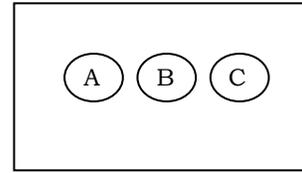


- A. Control
- B. Anís
- C. Menta

➤ ***Penicillium oxalicum***

[0.1%]

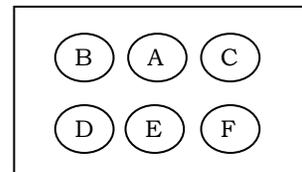
*Sin efecto



- A. Control
- B. Ajo
- C. Cebolla

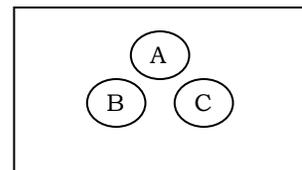
[0.15 y 0.05%]

*Sin efecto



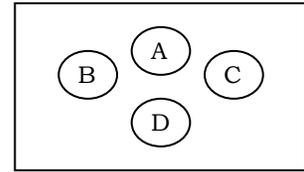
- A. Control
- B. Cilantro
- C. Cebolla
- D. Menta
- E. Anís
- F. Ajo

*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Orégano
- C. Tomillo

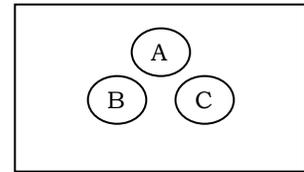
***Efecto fungicida**



- A. Control
- B. Clavo
- C. Tomillo
- D. Canela

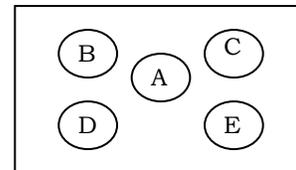
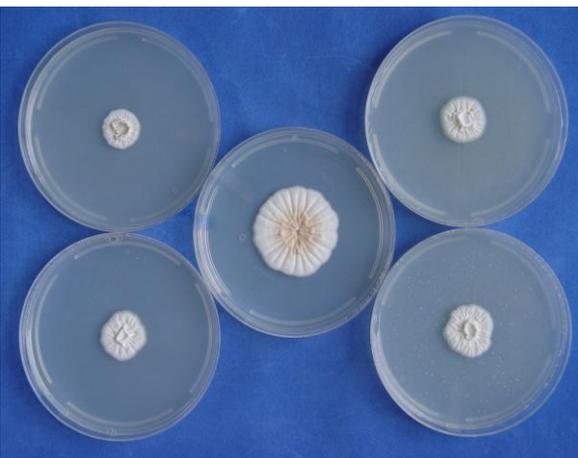
[0.25 y 0.025 %]

***Sin efecto**



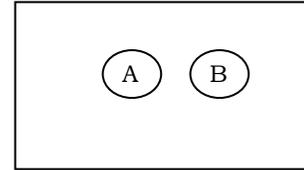
- A. Control
- B. Cebolla
- C. Ajo

***Efecto fungistático**



- A. Control
- B. Orégano
- C. Cilantro
- D. Anís
- E. Menta

*Efecto fungicida

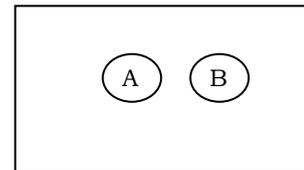


A. Control

B. Clavo

[0.35%]

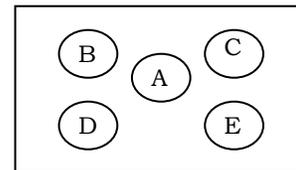
*Efecto fungicida



A. Control

B. Ajo

*Efecto fungistático



A. Control

B. Cebolla

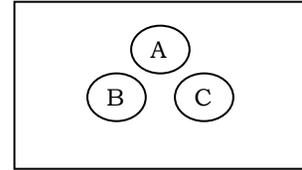
C. Cilantro

D. Menta

E. Anís

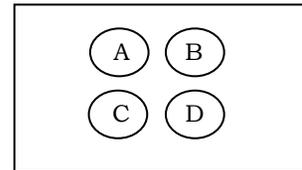
[0.45%]

*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Ajo
- C. Cilantro

*Efecto fungistático

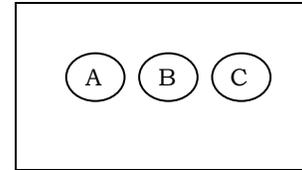


- A. Control
- B. Anís
- C. Menta
- D. Cebolla

➤ *Penicillium funiculosum*

[0.1%]

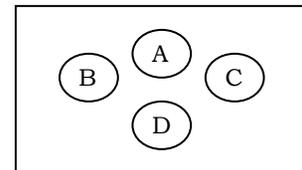
*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Ajo
- C. Cebolla

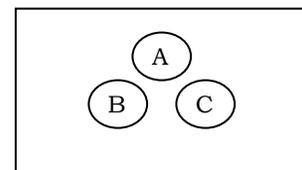
[0.15 y 0.05 %]

*Sin efecto



- A. Control
- B. Cilantro
- C. Anís
- D. Cebolla

*Efecto fungistático

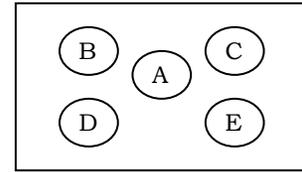


- A. Control
- B. Menta
- C. Ajo

***Efecto fungicida**

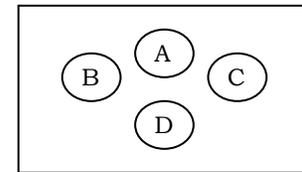


[0.25 y 0.025 %]



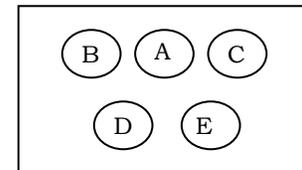
- A. Control
- B. Tomillo
- C. Clavo
- D. Orégano
- E. Canela

***Sin efecto**



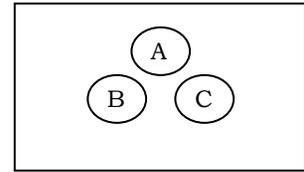
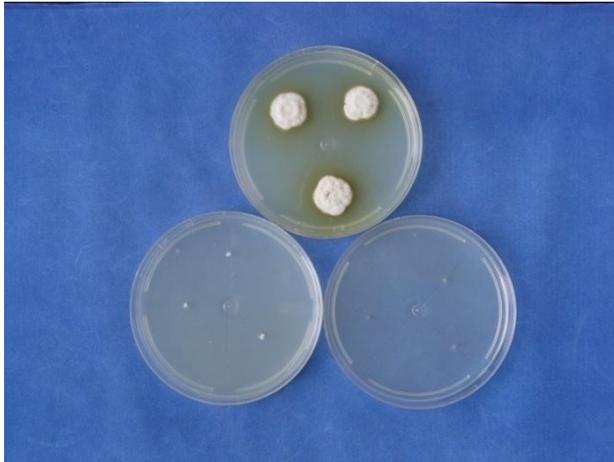
- A. Control
- B. Ajo
- C. Cebolla
- D. Anís

***Efecto fungistático**



- A. Control
- B. Canela
- C. Cilantro
- D. Orégano
- E. Menta

*Efecto fungicida



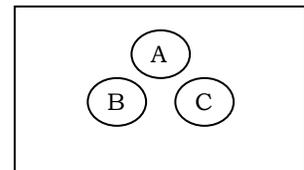
A. Control

B. Tomillo

C. Clavo

[0.35%]

*Efecto fungistático



A. Control

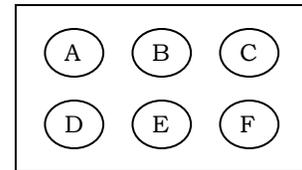
B. Anís

C. Cilantro

➤ *Penicillium janthinellum*

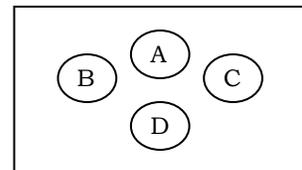
[0.1%]

*Sin efecto



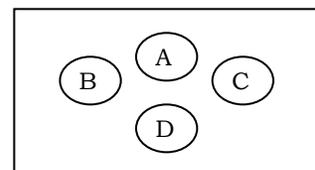
- A. Cebolla
- B. Control
- C. Ajo
- D. Anís
- E. Menta
- F. Orégano

*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Orégano
- C. Clavo
- D. Tomillo

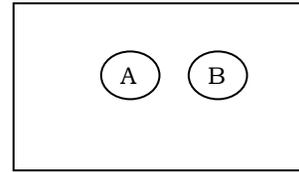
*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Orégano
- C. Clavo
- D. Tomillo

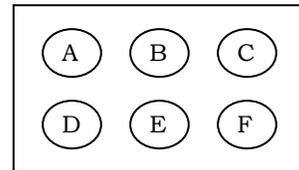
[0.15 y 0.05%]

*Sin efecto



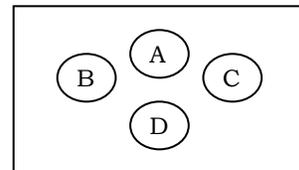
- A. Control
- B. Cilantro

*Efecto fungistático



- A. Cebolla
- B. Control
- C. Menta
- D. Anís
- E. Ajo
- F. Orégano

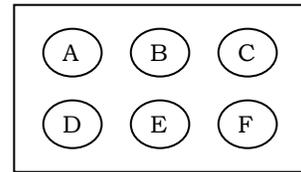
*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Canela
- C. Clavo
- D. Tomillo

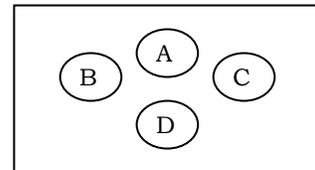
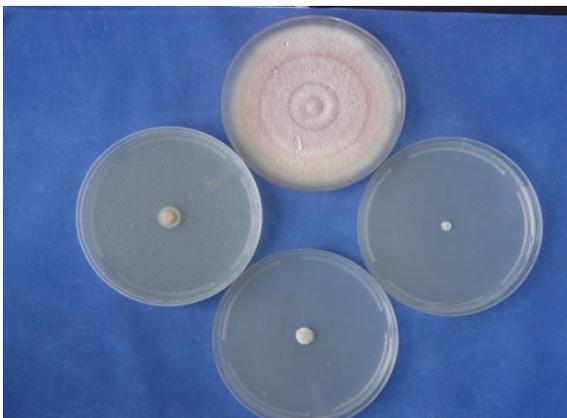
[0.25%]

*Efecto fungistático (Toma 1)



- A. Ajo
- B. Control
- C. Cilantro
- D. Menta
- E. Orégano
- F. Canela

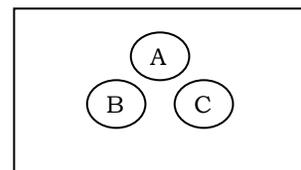
*Efecto fungistático (Toma 2)



- A. Control
- B. Anís
- C. Clavo
- D. Tomillo

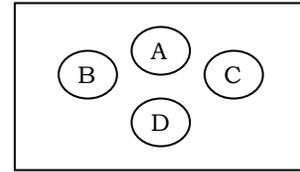
[0.35%]

*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Menta
- C. Anís

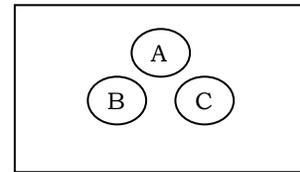
*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Cebolla
- C. Cilantro
- D. Ajo

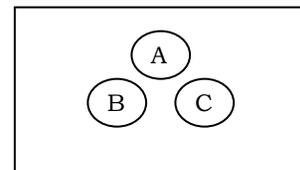
[0.45%]

*Efecto fungistático



- A. Control
- B. Anís
- C. Menta

*Efecto fungicida



- A. Control
- B. Ajo
- C. Cebolla

**ANEXO 6. EFECTO ANTIFÚNGICO DE 9 ACEITES ESENCIALES SOBRE EL
DESARROLLO DE ESPECIES DE *FUSARIUM* EMPLEANDO 7
CONCENTRACIONES DIFERENTES.**

❖ *Fusarium graminearum*

[0.1%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.35 a*	3.88 a	6.3 a	8.18 a	8.93 a		
Ajo	0.95 bc	1.95 c	4.96 b	6.63 bc	8.03 a	10	Ft**
Anís	2.15 ab	4.15 a	5.06 b	5.88 c	6.36 b	28	Ft
Canela	0 d	0 d	0 e	0 f	0 e	100	Fg
Cebolla	1.16 abc	2.63 b	5.85 ab	7.45 ab	8.75 a	2.01	Ft
Cilantro	0.78 cd	2.4 bc	3.56 c	4.23 d	5.23 c	41.4	Ft
Clavo	0 d	0 d	0 e	0 f	0 e	100	Ft
Menta	0 d	2.01 bc	2.38 d	2.86 e	4.1 d	54	Ft
Orégano	0 d	0 d	0 e	0 f	0 e	100	Ft
Tomillo	0 d	0 d	0 e	0 f	0 e	100	Fg

[0.05%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.35 a*	3.88 a	6.3 a	8.18 a	8.93 a		
Canela	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Fg**
Clavo	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Ft
Orégano	0 b	0 b	0 b	0 b	0.56 b	93.7	Ft
Tomillo	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Fg

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida.

[0.025%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.35 a*	3.88 a	6.3 a	8.18 a	8.93 a		
Canela	0 b	0 b	0 c	0 c	0 c	100	Ft **
Clavo	0 b	0 b	0 c	0 c	0.3 c	96.6	Ft
Tomillo	0 b	0 b	1.03 b	2.46 b	3.4 b	61.9	FT

[0.15%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.35 a*	3.88 a	6.3 a	8.18 a	8.93 a		
Ajo	0.36 c	0.5 d	2 d	2.43 d	2.8 d	68.6	Ft**
Anís	2.1 ab	4.36 a	6.76 a	8.6 a	9 a	0	Se
Cebolla	1 abc	2 bc	2.7 c	3.33 c	4.2 c	52.9	Ft
Cilantro	0.63 bc	3.43 ab	5.75 b	8.6 a	9 a	0	Se
Menta	0 c	1 cd	2.43 cd	5.66 b	7.65 b	14.3	Ft

[0.25%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.35 a*	3.88 a	6.3 a	8.18 a	8.93 a		
Ajo	0 b	0 c	0 c	0 d	0 d	100	Ft**
Anís	0 b	0 c	1.6 b	3.3 b	5.63 b	36.9	Ft
Cebolla	0 b	0 c	0 c	0 d	0 d	100	Ft
Cilantro	0 b	1.55 c	5.1 a	7.83 a	9.3 a	0	Se
Menta	0 b	0 c	0.9 b	1.48 c	2.46 c	72.4	Ft

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida.

[0.35%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.35 a*	3.88 a	6.3 a	8.18 a	8.93 a		
Anís	0 b	0 b	0 c	0.65 b	1.35 b	84.4	Ft**
Cilantro	0 b	0 b	3.23b	5.08 a	6.88 a	22.9	Ft
Menta	0 b	0 b	0 c	0.53 b	0.7 b	92.1	Ft

[0.45%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.35 a*	3.88 a	6.3 a	8.18 a	8.93 a		
Anís	0 b	0 b	0 b	0.65 b	0.75 b	91.6	
Cilantro	0 b	0 b	0 b	0 c	0 c	100	Fg **
Menta	0 b	0 b	0 b	0 c	0 c	100	Ft

❖ *Fusarium moniliforme*

[0.1%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.57 a*	2.24 a	3.26 a	4.14 a	4.86 a		
Ajo	1.3 a	1.66 ab	3.08 a	3.48 a	4.16 a	14.4	Ft**
Anís	1.3 a	2.23 a	2.96 a	3.81 a	4.61 a	5.14	Ft
Canela	0 b	0 c	0 c	0 b	0 b	100	Fg
Cebolla	1.33 a	1.73 ab	3.35 a	3.86 a	4.53 a	6.79	Ft
Cilantro	1.5 a	1.93 ab	2.75 a	3.66 a	4.76 a	2.05	Ft
Clavo	0 b	0 c	0 c	0 b	0 b	100	Ft
Menta	1.08 a	1.48 b	1.98 b	2.66 a	3.25 a	33.1	Ft
Orégano	0 b	0 c	0 c	0.46 b	0.6 b	87.6	Ft
Tomillo	0 b	0 c	0 c	0 b	0 b	100	Fg

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida.

[0.05%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.57 a*	2.24 a	3.26 a	4.14 a	4.86 a		
Canela	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Fg**
Clavo	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Ft
Tomillo	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Fg

[0.025%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.57 a*	2.24 a	3.26 a	4.14 a	4.86 a		
Canela	0 b	0 b	0 b	1.5 b	2.13 b	56.1	Ft**
Clavo	0 b	0 b	0.43 b	1.45 b	1.91 b	60.6	Ft
Tomillo	0 b	0 b	0.76 b	0.86 b	1.05 b	78.3	Ft

[0.15%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.57 a*	2.24 a	3.26 a	4.14 a	4.86 a		
Ajo	0 b	0 b	0 d	0 e	0 e	100	Ft**
Anís	0 b	1.51 a	2.11 bc	3.53 ab	4.11 b	15.4	Ft
Cebolla	0.7 b	1.13 a	1.86 bc	2.01 d	2.1 d	56.7	Ft
Cilantro	0.2 b	1.4 a	2.41 b	3.08 bc	3.93 b	19.1	Ft
Menta	0 b	0.93 ab	1.63 c	2.56 c	3.28 c	32.5	Ft
Orégano	0 b	0 b	0 d	0 e	0 e	100	Ft

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida.

[0.25%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.57 a*	2.24 a	3.26 a	4.14 a	4.86 a		
Anís	0 b	0 b	1.75 b	1.56 b	1.23 c	74.6	Ft**
Cebolla	0 b	0 b	0 c	0 c	0 d	100	Ft
Cilantro	0 b	0 b	0 c	0 c	0 d	100	Fg
Menta	0 b	0 b	1.33 b	1.91 b	2.31 b	52.4	Ft

[0.35%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.57 a*	2.24 a	3.26 a	4.14 a	4.86 a		
Anís	0 b	0 b	0 b	1.75 b	1.96 b	59.6	Ft**
Menta	0 b	0 b	0 b	0 c	0 c	100	Ft

[0.45%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.57 a*	2.24 a	3.26 a	4.14 a	4.86 a		
Anís	0 b	0 b	0 b	0 b	0.65 b	86.6	Ft**

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida.

❖ *Fusarium oxysporum*

[0.1%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.49 a*	3.87 b	5.51 b	6.7 a	7.68 a		
Ajo	1.55 b	2.23 e	4.8 c	5.88 a	7.01 a	8.7	Ft**
Anís	3.13 a	4.76 a	5.96 a	7.2 a	8.35 a	0	Se
Canela	0 c	0 f	0 e	0 c	0 c	100	Ft
Cebolla	1.38 b	2.76 cd	4.9 c	6 a	7.13 a	7.16	Ft
Cilantro	1.5 b	2.63 d	4.36 d	5.71 a	6.56 a	14.5	Ft
Clavo	0 c	0 f	0 e	5.8 a	6.3 a	18.0	Ft
Menta	1.6 b	3.1 c	4.08 d	5.6 a	6.36 a	17.1	Ft
Orégano	0 c	0 f	0 e	0 c	0 c	100	Ft
Tomillo	0 c	0 f	0 e	3.5 b	5.1 b	33.5	Ft

[0.05%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.49 a*	3.87 a	5.51 a	6.7 a	7.68 a		
Canela	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Ft**
Orégano	0.56 b	0.6 b	0.8 b	1.1 b	1.78 b	76.8	Ft

[0.025%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.49 a*	3.87 a	5.51 a	6.7 a	7.68 a		
Canela	0 b	1.31 b	2.38 b	3.36 b	4.51 b	41.2	Ft**

 *Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida.

[0.35%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.49 a*	3.87 a	5.51 a	6.7 a	7.68 a		
Anís	0 b	0 b	0.66 b	2.15 b	2.81 b	63.41	Ft**
Cilantro	0 b	0 b	0 b	0 b	0.83 c	89.1	Ft
Menta	0 b	0 b	1.03 b	1.96 b	3.03 b	60.5	Ft

[0.45%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de Inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	2.49 a*	3.87 a	5.51 a	6.7 a	7.68 a		
Anís	0 b	0 b	1.03 b	1.36 b	1.76 b	77	Ft**
Cilantro	0 b	0 b	0 c	0 c	0 c	100	Fg
Menta	0 b	0 b	0 c	0 c	0 c	100	Ft

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida.

**ANEXO 7. EFECTO ANTIFÚNGICO DE 9 ACEITES ESENCIALES SOBRE EL
DESARROLLO DE ESPECIES DE *PENICILLIUM* EMPLEANDO 7
CONCENTRACIONES DIFERENTES.**

❖ *Penicillium olsonii*

[0.1%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.49 a *	2.17 a	2.67 ab	3.21 a	3.77 ab		
Ajo	0 c	2.25 a	2.69 ab	3.36 a	4.2 a	0	Se**
Anís	1.31 a	2.18 a	2.73 a	3.43 a	3.95 a	0	Se
Canela	0 c	0 d	0 e	0 c	0 e	100	Fg
Cebolla	0.65 b	2.35 a	2.46 ab	3.13 a	4.06 a	0	Se
Cilantro	1.31 a	2.06 a	2.48 ab	3.03 a	3.86 ab	0	Se
Clavo	0 c	0.61 c	1.06 d	1.33 b	1.78 d	52.79	Ft
Menta	1.06 ab	1.33 b	1.88 bc	2.8 a	3.31 b	12.20	Ft
Orégano	0 c	0.98 b	1.36 dc	1.76 b	2.28 b	39.52	Ft
Tomillo	0 c	0 d	0 e	0 c	0e	100	Fg

[0.05%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.49 a*	2.17 a	2.67 a	3.21 a	3.77 a		
Canela	0 b	0 b	0 c	0 c	0 c	100	Fg**
Tomillo	0 b	0 b	1.28 b	1.75 b	2.06 b	45.36	Ft

[0.025%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.49 a*	2.17 a	2.67 a	3.21 a	3.77 a		
Canela	0 b	0.45 b	0.68 b	0.7 b	0.93 b	75.33	Ft **

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida

[0.15%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.49 a*	2.17 a	2.67 a	3.21 a	3.77 a		
Ajo	0 d	0 c	0 b	0 c	0 b	100	Fg**
Anís	1.08 b	1.83 ab	2.83 a	3.78 a	4.43 a	0	Se
Cebolla	0 d	0 c	0.36 b	0.56 b	0.66 b	82.49	Ft
Cilantro	0.83 c	1.7 b	2.55 a	3.56 a	4.16 a	0	Se
Clavo	0 d	0 c	0 b	0 c	0 b	100	Ft
Menta	0.88 c	1.73 b	1.96 a	3.05 a	3.61 a	4.24	Ft
Orégano	0 d	0 c	0 b	0 c	0 b	100	Ft

[0.25%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.49 a*	2.17 a	2.67 a	3.21 a	3.77 a		
Anís	0 c	0.85 c	1.13 c	1.25 c	1.4 c	62.86	Ft **
Cebolla	0 c	0 d	0 d	0 d	0 d	100	Fg
Cilantro	1.05 b	1.38 b	1.78 b	2.11 b	2.36 b	37.40	Ft
Menta	0 c	0.9 c	1.11 c	1.33 c	1.48 c	60.74	Ft

[0.35%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.49 a*	2.17 a	2.67 a	3.21 a	3.77 a		
Anís	0.31 b	0.45 b	0.41 b	0.55 b	0.75 b	80.11	Ft**
Cilantro	0 c	0 d	0 c	0 d	0 c	100	Fg
Menta	0.3 b	0.35 c	0.4 b	0.43 c	0.55 b	85.41	Ft

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida

[0.45%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.49 a*	2.17 a	2.67 a	3.21 a	3.77 a		
Anís	0 b	0.41 b	0.68 b	0.78 b	0.98 b	74.01	Ft**
Menta	0 b	0 c	0 c	0.3 c	0.36 c	90.45	Ft

 ❖ *Penicillium oxalicum*

[0.1%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.43 ab*	2.16 a	2.8 a	3.27 ab	3.73 a		
Ajo	0.8 c	2.02 a	2.08 b	2.55 ab	2.41 c	35.39	Ft **
Anís	1.51 ab	2.21 a	2.55 ab	2.7 ab	3.3 ab	11.53	Ft
Canela	0 d	0 d	0 d	0 b	0 e	100	Fg
Cebolla	1.06 bc	2.06 a	2.13 b	2.43 ab	2.83 bc	24.13	Ft
Cilantro	1.71 a	2.1 a	2.55 ab	2.8 ab	3.03 b	18.77	Ft
Clavo	0 d	0.55 c	0.66 c	0.95 b	1.08 d	71.05	Ft
Menta	1.4 ab	2.11 a	2.4 ab	2.9 ab	3.15 b	15.55	Ft
Orégano	1.17 bc	1.35 b	2.36 ab	2.43 ab	3 e	19.57	Ft
Tomillo	0 d	0 d	0 d	0 b	0 e	100	Fg

[0.05%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.43 a*	2.16 a	2.8 a	3.27 a	3.73 a		
Canela	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Fg**
Tomillo	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Fg

 *Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida

[0.025%]

Aceite	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Esencial	1.43 a*	2.16 a	2.8 a	3.27 a	3.73 a		
Testigo	1.43 a*	2.16 a	2.8 a	3.27 a	3.73 a		
Canela	0.95 b	1.15 a	1.21 ab	1.31 ab	1.53 b	58.98	Ft**
Tomillo	0.73 bc	0.83 ab	0.88 ab	1.1 bc	1.16 bc	68.90	Ft

[0.15%]

Aceite	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Esencial	1.43 a*	2.16 a	2.8 ab	3.27 b	3.73 b		
Testigo	1.43 a*	2.16 a	2.8 ab	3.27 b	3.73 b		
Ajo	0 b	0 b	0 d	0 d	0.08 e	97.86	Ft**
Anís	1.6 a	2.15 a	3.45 a	4.36 a	4.95 a	0	Se
Cebolla	0 b	0 b	0.41 cd	1.6 c	2 c	46.38	Ft
Cilantro	1.41 a	2.13 a	1.33 cb	4.3 a	4.78 a	0	Se
Clavo	0 b	0 b	0 d	0 d	1.2 d	67.83	Ft
Menta	1.51 a	2.3 a	3 ab	4 a	4.51 ab	0	Se
Orégano	0 b	0.2 b	1.31 cb	1.43 c	1.53 cd	58.98	Ft

[0.25%]

Aceite	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Esencial	1.43 a*	2.16 a	2.8 a	3.27 a	3.73 a		
Testigo	1.43 a*	2.16 a	2.8 a	3.27 a	3.73 a		
Ajo	0 c	0 d	0 d	0 c	0 d	100	Fg**
Anís	0 c	1.16 c	1.35 c	1.55 b	1.93 bc	48.26	Ft
Cebolla	0 c	0 d	0 d	0.36 c	1.45 c	61.13	Ft
Cilantro	0 c	0 d	1.26 c	1.36 b	1.95 bc	47.72	Ft
Menta	1.08 b	1.33 b	1.75 b	2.1 b	2.33 b	37.53	Ft
Orégano	0 c	0 d	0 d	0 c	0 d	100	Fg

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida

[0.35%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.43 a*	2.16 a	2.8 a	3.27 a	3.73 a		
Anís	0 c	0.51 b	0.7 b	0.49 b	0.7 b	81.23	Ft**
Cebolla	0 c	0c	0 c	0 c	0.75 b	79.89	Ft
Cilantro	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c	100	Fg
Menta	0.2 b	0.35 bc	0.38 b	0.4 b	0.41 bc	89.28	Ft

[0.45%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.43 a*	2.16 a	2.8 a	3.27 a	3.73 a		
Anís	0 b	0.45 b	0.88 b	1.01 b	1.03 b	72.36	Ft**
Cebolla	0 b	0 c	0 c	0 c	0.08 c	97.86	Ft
Menta	0 b	0 c	0 c	0 c	0 c	100	Fg

 ❖ *Penicillium funiculosum*

[0.1%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	0.81 b*	1.35 a	1.66 b	2.03 a	2.31 ab		
Ajo	0 e	1.26 a	1.61 c	2.23 a	2.53 a	0	Se**
Anís	1.11 a	1.45 a	2.05 a	2.36 a	2.8 a	0	Se
Canela	0 e	0 d	0 f	0 d	0 d	100	Fg
Cebolla	0 e	1.41 a	1.8 ab	2.18 a	2.55 a	0	Se
Cilantro	0.28 c	0.91 b	1.33 c	2.08 a	2.31 ab	0	Se
Clavo	0 e	0 d	0 f	0 d	0 d	100	Fg
Menta	0.15 d	0.5 c	0.7 d	1.3 b	1.93 b	16.45	Ft
Orégano	0 e	0 d	0 f	0 d	0 d	100	Fg
Tomillo	0 e	0 d	0.35 e	0.81 c	1.05 c	54.55	Ft

 *Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = Fungicida

[0.05%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	0.81 a*	1.35 a	1.66 a	2.03 a	2.31 a		
Canela	0.5 a	0.91 a	0.61 b	0.9 b	1.15 b	50.22	Ft**
Clavo	0 b	0 b	0 c	0 c	0 c	100	Fg
Orégano	0 b	0 b	0.38 c	0.71 b	1.01 b	56.28	Ft

[0.025%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	0.81 b*	1.35 a	1.66 a	2.03 a	2.31 a		
Clavo	0 c	0 b	0.68 c	0.98 b	1.15 b	50.22	Ft**

[0.15%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	0.81 b*	1.35 d	1.66 b	2.03 c	2.31 c		
Ajo	0 d	0 e	0 d	0 e	0 d	100	Fg**
Anís	1.18 a	3.46 a	2.33 a	2.86 a	3.25 a	0	Se
Cebolla	0 d	0 e	0 d	0 e	0 d	100	Fg
Cilantro	0.65 c	2.9 b	1.83 b	2.45 b	2.9 b	0	Se
Menta	0.55 c	1.8 c	1.33 c	1.7 d	2.08 c	9.96	Ft
Tomillo	0 d	0 e	0 d	0 e	0 d	100	Fg

[0.25%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	0.81 a*	1.35 a	1.66 a	2.03 a	2.31 a		
Anís	0 b	0 b	0.66 b	0.9 b	1.15 b	50	Ft**
Cilantro	0 b	0 b	0.3 c	0.45 c	0.48 c	79.22	Ft
Menta	0 b	0 b	0 d	0 c	0.13 d	94.37	Ft

 * Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática; Fg = fungicida.

[0.35%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	0.81 a*	1.35 a	1.66 a	2.03 a	2.31 a		
Anís	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Ft**
Cilantro	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Ft
Menta	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	100	Ft

 ❖ *Penicillium janthinellum*

[0.1%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.42 ab*	2.85 ab	4.4 a	5.54 a	6.66 a		
Ajo	1.16 b	2.4 ab	4.26 a	6.6 a	8.03 a	0	Se**
Anís	1.95 a	3.46 a	5.7 a	8.2 a	9 a	0	Se
Canela	0 c	0 c	0 b	0 b	0 c	100	Fg
Cebolla	1.58 ab	3.03 a	4.91 a	7.21 a	8.48 a	0	Se
Cilantro	1.43 ab	2.9 a	4.71 a	7.15 a	8.56 a	0	Se
Clavo	0 c	0 c	0.36 b	0.41 b	0.46 bc	93.09	Ft
Menta	1.43 ab	1.8 b	3.8 a	5.81 a	6.98 a	0	Se
Orégano	0 c	0.3 c	0.91 b	1.26 b	1.95 b	70.72	Ft
Tomillo	0 c	0 c	0.4 b	0.53 b	0.78 bc	88.29	Ft

[0.05%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.42 a*	2.85 a	4.4 a	5.54 a	6.66 a		
Canela	1.06 c	1.53 b	1.78 b	2.13 b	2.65 b	60.21	Ft**

 * Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática.

[0.15%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.42 a*	2.85 a	4.4 ab	5.54 a	6.66 a		
Ajo	0 b	0 d	0 b	0 d	0 c	100	Fg**
Anís	0 b	0.46 c	2.61 a	3.15 b	4.68 b	29.73	Ft
Cebolla	0 b	0 d	0 b	0 d	0 c	100	Fg
Cilantro	0 b	1.48 b	4.48 ab	5.18 a	6.98 a	0	Se
Clavo	0 b	0 d	0 b	0 d	0 c	100	Fg
Menta	0 b	1.65 ab	3.23 ab	3.48 b	4.86 b	27.03	Ft
Orégano	0 b	0 d	0 b	0 c	0 c	100	Fg
Tomillo	0 b	0 d	0 b	0 d	0 c	100	Ft

[0.25%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.42 a*	2.85 a	4.4 a	5.54 a	6.66 a		
Anís	0 b	0.4 c	1.13 bc	1.53 b	1.98 b	70.27	Ft**
Cilantro	0 b	0 c	1.03 bc	1.63 b	3.13 b	53	Ft
Menta	0 b	1.25 b	2.15 b	2.25 b	3.08 b	53.75	Ft

[0.35%]

Aceite Esencial	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.42 a*	2.85 a	4.4a	5.54 a	6.66 a		
Anís	0 b	0 c	0 c	0 c	0 c	100	Ft**
Cilantro	0 b	0 c	0 c	0 c	0 c	100	Ft
Menta	0 b	0.23 b	0.28 b	0.3 b	0.33 b	95	Ft

 * Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática.

[0.45%]

Aceite	Crecimiento de colonias (cm)					Grado de inhibición (%)	Actividad Antifúngica
	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Esencial	72 h	144 h	216 h	288 h	360 h		
Testigo	1.42 a*	2.85 a	4.4 a	5.54 a	6.66 a		
Menta	0 b	0 b	0 c	0 c	0 c	100	Ft**

* Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

** Ft = fungistática.