

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**DETERMINACIÓN DE LA ACCIÓN
ANTIFÚNGICA DE LOS ACEITES ESENCIALES
DE PIMIENTA NEGRA (*Piper nigrum*), ROMERO
(*Rosmarinus officinalis*) Y ORÉGANO
(*Origanum vulgare*) SOBRE HONGOS
POSTCOSECHA EN AJÍ PAPRIKA (*Capsicum
annuum* L.)**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en
Biología

Cynthia León Mendoza

Lima, Perú

2017

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi esposo, Víctor Palomino, quien me brindó su amor, su cariño, su estímulo, su apoyo constante, su comprensión y paciente espera para que pudiera terminar el grado; son evidencia de su gran amor. ¡Gracias!

A mis adorados hijos Matías y Santiago quienes son mi mayor motivación para seguir creciendo profesionalmente. Especialmente a Matías que me prestó el tiempo que le pertenecía. ¡Gracias, mi muñequito de torta!

A mis padres, Miryam y Jorge quienes me enseñaron desde pequeña a luchar para alcanzar mis metas. Mi triunfo es el de ustedes, ¡los amo!

AGRADECIMIENTOS

Primero y como más importante, me gustaría agradecer sinceramente a mi asesor de tesis, Mg. Juan Carlos Ramos Gorbeña, por su esfuerzo y dedicación.

Sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación como investigadora.

Él ha inculcado en mí un sentido de seriedad, responsabilidad y rigor académico sin los cuales no podría tener una formación completa como investigadora.

A su manera, ha sido capaz de ganarse mi lealtad, así como sentirme en deuda con él por todo lo recibido durante el periodo de tiempo que ha durado esta tesis.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
ÍNDICE	4
ÍNDICE DE TABLAS	6
ÍNDICE DE GRÁFICOS	7
RESUMEN	10
ABSTRACT	12
I. INTRODUCCIÓN	13
II. MARCO TEORICO	15
2.1. Aceites esenciales	15
2.2. Propiedades antibacterianas y antifúngicas de los aceites esenciales	15
2.3. Género Aspergillus	16
2.4. Género Penicillium	17
2.5. Género Fusarium	17
2.6. Micotoxinas	18
III. ANTECEDENTES	19
IV. MATERIALES Y METODOS	27
4.1. Materiales:	27
4.2. Métodos:	28
4.2.1. Aislamiento e Identificación de Hongos mediante (Molds and Mycotoxins, Enumeration of Yeast and Mold in Food - Dilution Plating Technique).	28

4.2.2.	Evaluación de la acción antifúngica de los tratamientos individuales y combinados a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% de los aceites esenciales de pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>), orégano (<i>Origanum vulgare</i>) y romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) sobre hongos postcosecha en ají paprika (<i>Capsicum annuum</i> L.)	29
4.2.3.	Análisis estadístico	30
V.	RESULTADOS	31
5.1.	Aislamiento e Identificación de Hongos mediante (Molds and Mycotoxins, Enumeration of Yeast and Mold in Food - Dilution Plating Technique).	31
5.2.	Evaluación de la acción antifúngica de los tratamientos individuales y combinados a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% de los aceites esenciales de pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>), orégano (<i>Origanum vulgare</i>) y romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) sobre hongos postcosecha en ají paprika (<i>Capsicum annuum</i> L.)	31
VI.	DISCUSIÓN	34
VII.	CONCLUSIONES	36
9.1.	Tablas:	45
9.2.	Gráficos:	51
9.3.	Fotografías:	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01: <i>Diseño experimental de las concentraciones de Aceite Esencial de Pimienta negra (Piper nigrum)</i> _____	45
Tabla N° 02: <i>Diseño experimental de las Concentraciones de Aceite Esencial de Romero (Rosmarinus officinalis)</i> _____	45
Tabla N° 03: <i>Diseño experimental de las Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano (Origanum vulgare)</i> _____	46
Tabla N° 04: <i>Concentraciones de Aceite Esencial de Pimienta negra (Piper nigrum), Romero (Rosmarinus officinalis) y Orégano (Origanum vulgare)</i> _____	46
Tabla N° 05: <i>Datos de las mediciones del diámetro de crecimiento promedios asociados a la actividad antifúngica del orégano (Origanum vulgare) frente a los hongos postcosecha Fusarium solani, Penicillium sp. y Aspergillus flavus en concentraciones de 0,3; 0,5; 0,7 y 1% y control.</i> _____	47
Tabla N° 06: <i>Datos de las mediciones del diámetro de crecimiento promedios asociados a la actividad antifúngica del romero (Rosmarinus officinalis) frente a los hongos postcosecha Fusarium solani, Penicillium sp. y Aspergillus flavus en concentraciones de 0,3; 0,5; 0,7 y 1% y control.</i> _____	48
Tabla N° 07: <i>Datos de las mediciones del diámetro de crecimiento promedios asociados a la actividad antifúngica de la pimienta negra (Piper nigrum) frente a los hongos postcosecha Fusarium solani, Penicillium sp. y Aspergillus flavus en concentraciones de 0,3; 0,5; 0,7 y 1% y control.</i> _____	49
Tabla N° 08: <i>Datos de las mediciones del diámetro de crecimiento promedios asociados a la actividad antifúngica de orégano, romero y pimienta negra frente a los hongos postcosecha Fusarium solani, Penicillium sp. y Aspergillus flavus en concentraciones de 0,3; 0,5; 0,7 y 1% y control.</i> _____	50

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 01: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de orégano (<i>Origanum vulgare</i>) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Fusarium solani</i>	51
Gráfico N° 02: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de orégano (<i>Origanum vulgare</i>) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Penicillium sp.</i>	52
Gráfico N° 03: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de orégano (<i>Origanum vulgare</i>) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Aspergillus flavus</i>	53
Gráfico N° 04: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Fusarium solani</i>	54
Gráfico N° 05: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Penicillium sp.</i>	55
Gráfico N° 06: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Aspergillus flavus</i>	56
Gráfico N° 07: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Fusarium solani</i>	57
Gráfico N° 08: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Penicillium sp.</i>	58
Gráfico N° 09: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Aspergillus flavus</i>	59
Gráfico N°10: Actividad antifúngica del tratamiento combinado de los aceites esenciales de pimienta negra, romero y orégano a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Fusarium solani</i>	60

Gráfico N°11: Actividad antifúngica del tratamiento combinado de los aceites esenciales de pimienta negra, romero y orégano a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Penicillium sp.</i>	61
Gráfico N°12: Actividad antifúngica del tratamiento combinado de los aceites esenciales de pimienta negra, romero y orégano a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: <i>Aspergillus flavus</i>	62
FOTOGRAFÍA N° 01: Muestra biológica de <i>Capsicum annum L.</i> "Ají paprika"	63
FOTOGRAFÍA N° 02: Tratamientos de agar Sabourand con aceites esenciales	63
FOTOGRAFÍA N° 03: Crecimiento de <i>Penicillium sp.</i> en tratamiento control	64
FOTOGRAFÍA N° 04: Crecimiento de <i>Fusarium solani</i> en tratamiento control	64
FOTOGRAFÍA N° 05: Crecimiento de <i>Aspergillus flavus</i> en tratamiento control	64
FOTOGRAFÍA N° 06: Crecimiento de hongos <i>Penicillium sp.</i> en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 0,3%	65
FOTOGRAFÍA N° 07: Crecimiento de hongos <i>Fusarium solani</i> en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 0,3%	65
FOTOGRAFÍA N° 08: Crecimiento de hongos <i>Aspergillus flavus</i> en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 0,3%	65
FOTOGRAFÍA N° 09: Crecimiento de hongos <i>Aspergillus flavus</i> en tratamiento con aceite esencial de romero al 0,3%	66
FOTOGRAFÍA N° 10: Crecimiento de hongos <i>Fusarium solani</i> en tratamiento con aceite esencial de romero al 0,3%	66
FOTOGRAFÍA N° 11: Crecimiento de hongos <i>Penicillium sp.</i> en tratamiento con aceite esencial de romero al 0,3%	66
FOTOGRAFÍA N° 12: Crecimiento de hongos <i>Fusarium solani</i> en tratamiento con aceite esencial de orégano al 0,5%	67
FOTOGRAFÍA N° 13: Crecimiento de hongos <i>Fusarium solani</i> en tratamiento con aceite esencial de tratamiento combinado al 0,5%	67
FOTOGRAFÍA N° 14: Crecimiento de hongos <i>Aspergillus flavus</i> en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 1%, 0,7%, 0,5% y 0,3%.	68
FOTOGRAFÍA N° 15: Crecimiento de hongos <i>Fusarium solani</i> en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 1%, 0,7%, 0,5% y 0,3%.	68
FOTOGRAFÍA N° 16: Crecimiento de hongos <i>Penicillium sp.</i> en tratamiento con aceite esencial de romero al 0,5% y 0,3%.	69

FOTOGRAFÍA N° 17: Crecimiento de hongos <i>Penicillium sp.</i> en tratamiento con aceite esencial de orégano al 0,7%, 0,5% y 0,3%	69
FOTOGRAFÍA N° 18: Crecimiento de hongos sobre ají paprika en tratamiento en cámara húmeda con aceite esencial de orégano	70
FOTOGRAFÍA N° 19: Crecimiento de hongos sobre ají paprika en tratamiento en cámara húmeda con aceite esencial combinado	70
FOTOGRAFÍA N° 20: Crecimiento de hongos sobre ají paprika en tratamiento en cámara húmeda con aceite esencial de pimienta negra	71
FOTOGRAFÍA N° 21: Crecimiento de hongos sobre ají paprika en tratamiento en cámara húmeda con aceite esencial de romero	71
FOTOGRAFÍA N° 22: Preparación de tratamiento en cámara húmeda con aceites esenciales	72

RESUMEN

La contaminación fúngica de los productos agrícolas es un gran problema y conlleva la disminución en cantidad y calidad de las cosechas y por tanto de los alimentos. Los aceites esenciales han mostrado en diversos trabajos propiedades antibacterianas y antifúngicas. En el presente estudio se evaluó la actividad antifúngica de los aceites esenciales de pimienta negra (*Piper nigrum*), orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) en hongos postcosecha en ají paprika (*Capsicum annuum* L.) tales como *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp. y *Fusarium solani*.

Se aisló e identificó los hongos presentes en las muestras de ají paprika para después realizar un explante de 0.5 mm de diámetro de *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani* y *Penicillium* sp. en medio de cultivo de agar Sabourand que contenían los aceites esenciales de orégano, romero, pimienta negra a concentraciones de 0.3%, 0.5%, 0.7% y 1.0% para el tratamiento individual y combinado. Además se controló el crecimiento durante 12 días a temperatura ambiente.

Los aceites esenciales de pimienta negra (*Piper nigrum*) y de romero (*Rosmarinus officinalis*) no presentaron inhibición significativa en el crecimiento micelial en todas las concentraciones empleadas; mientras que en el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) en todas sus concentraciones y en su tratamiento combinado presentaron una inhibición del crecimiento micelial al 100% frente a los hongos fitopatógenos aislados.

En conclusión en este estudio se pone de manifiesto el gran potencial del aceite esencial de orégano para el control de los hongos; dicho efecto es debido a la presencia de principios activos, como el carvacrol, que ejercen una acción a nivel de las membranas mitocondriales por la disminución del

potencial de membrana evidenciando una acción fungicida, y se muestra como alternativa sólida a los agroquímicos.

Palabras claves: fungicida, fungistático, aceite esencial, hongos fitopatógenos.

ABSTRACT

Fungal contamination of agricultural products is a chronic problem and leads to a decrease in quantity and quality of crops and therefore of food. Essential oils have shown antibacterial and antifungal properties in various jobs. In the present study, the antifungal activity of essential oils of black pepper (*Piper nigrum*), oregano (*Origanum vulgare*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in post-harvest fungi on paprika (*Capsicum annum* L.) such as *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp.* and *Fusarium solani*.

The fungi present in the paprika samples were isolated and identified, after realized a 0.5 mm diameter explant of *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani* and *Penicillium sp.* in Sabourand agar medium containing the essential oils of oregano, rosemary, black pepper at concentrations of 0.3%, 0.5%, 0.7% and 1.0% for individual and combined treatment. In addition, the growth was monitored for 12 days at room temperature.

The essential oils of black pepper (*Piper nigrum*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) did not present significant inhibition in mycelial growth in all the concentrations used; while in the essential oil of oregano (*Origanum vulgare*) in all their concentrations and in their combined treatment they showed inhibition of the mycelial growth to 100% against the isolated phytopathogenic fungi.

In conclusion, this study reveals the great potential of oregano essential oil for the control of fungi. This effect is due to the presence of active substances, such as carvacrol, which exert an action at the level of the mitochondrial membranes due to the reduction of the membrane potential evidencing a fungicide action, and is shown as a solid alternative to agrochemicals.

Keywords: fungicide, fungistatic, essential oil, plant pathogenic fungus.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el Perú es un país exportador del ají paprika, los cultivos de este producto se extienden desde los valles de Barranca, La Libertad y Piura en el Norte; y en el Sur Lima, Ica, Arequipa y Tacna. El ají paprika es un producto no perecible de importancia en la costa peruana con una gran perspectiva en el crecimiento de sus áreas de cultivo para el mercado de agro exportación. Las pérdidas postcosecha de frutas y vegetales causadas por microorganismos están entre el 5-25% en países desarrollados y en un 40% en países en desarrollo, siendo las bacterias grampositivas, bacterias gramnegativas, esporulados, levaduras y hongos que contaminan durante del proceso de cosecha y postcosecha. Entre estos destacan los hongos *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Colletotrichum sp.*, *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus ochraceus* entre otros.

Es por ello, que el control de las enfermedades causadas por hongos durante la postcosecha se basa principalmente en el uso de fungicidas sintéticos, con efectos nocivos para los seres humanos, animales y ambiente; en consecuencia, surge la propuesta de la utilización de compuestos naturales como los aceites esenciales. Por esta razón, es que recientemente el uso de aceites esenciales de vegetales ha cobrado mayor importancia como bactericidas y fungicidas. La actividad antimicrobiana de estos aceites esenciales se ha atribuido a la presencia de compuestos aromáticos y grupos fenólicos como el carvacrol en el aceite esencial de orégano.

Por tal, el objetivo de esta investigación consistió en determinar la actividad antifúngica de los aceites esenciales de Pimienta negra (*Piper nigrum*), Romero (*Rosmarinus officinalis*) y Orégano (*Origanum vulgare*) sobre hongos

en ají paprika (*Capsicum annuum* L.) y así proporcionar un método de biocontrol alimentario frente al desarrollo de hongos postcosecha.

II. MARCO TEORICO

2.1. Aceites esenciales

Son compuestos naturales complejos, volátiles sintetizados por las plantas aromáticas. Estos líquidos aromáticos se obtienen de diferentes órganos de la planta: flores, raíces, hojas, tallos, frutos, semillas, etc. Pueden ser obtenidos por presión, fermentación, o extracción, pero el método más común para la producción comercial es el de destilación por vapor. Se conocen alrededor de unos 3000 aceites esenciales, de los cuales unos 300 son los más importantes comercialmente, destinados para el mercado de condimentos y fragancias (Burt, 2004).

Se caracterizan por un olor fuerte y son sintetizados por las plantas aromáticas como metabolitos secundarios. En la naturaleza juegan un papel importante en la protección de las plantas como antibacterianos, antivirales, antifúngicos, insecticidas y también frente a herbívoros mediante la reducción de su apetito por tales plantas (Bakkali. *et al*, 2008).

2.2. Propiedades antibacterianas y antifúngicas de los aceites esenciales

Desde hace mucho tiempo se han reconocido las propiedades antibacterianas de algunos aceites esenciales. Además de propiedades antibacterianas, los aceites o sus componentes han mostrado también propiedades antivíricas, antifúngicas, herbicidas e insecticidas. (Burt, 2004; Blázquez, 2014).

Existen numerosos estudios que revelan la actividad antimicrobiana, aunque no todos presentan la misma actividad y ésta dependería de sus componentes. (Fisher y Phillips, 2006).

Por otro lado, la actividad antimicrobiana de los aceites de pimienta negra, clavo, orégano, geranio, nuez moscada y tomillo fue examinada por Dorman y Deans (2000), quienes además determinaron los componentes volátiles que podrían contribuir a su actividad. El aceite esencial con un gran espectro de acción fue el de tomillo, seguido de orégano, clavo, nuez moscada, geranio y pimienta negra. La actividad de los aceites esenciales estaría relacionada con la composición de los volátiles de los aceites de las plantas y sus grupos funcionales, y una posible interacción sinérgica entre sus componentes. Los componentes con estructura fenólica como el carvacrol, el eugenol y el timol, fueron muy efectivos frente a los microorganismos.

La aplicación de aceites esenciales es un método muy atractivo para controlar enfermedades tanto en cosecha como en postcosecha. Estos materiales son una mezcla compleja de compuestos volátiles producidos en diferentes partes de las plantas, y han sido reconocidos por poseer diversas funciones, incluyendo la resistencia a plagas y enfermedades; algunos aceites esenciales, así como sus constituyentes, han demostrado poseer propiedades antibacterianas y antifúngicas (Santamarina *et al.* 2015).

2.3. Género *Aspergillus*

Las especies del género *Aspergillus* se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza pudiéndose aislar de una gran variedad de substratos. Gracias a la facilidad de dispersión de sus conidios y a su pequeño tamaño, éstos pueden permanecer en suspensión en el ambiente durante un largo

periodo de tiempo, por lo que el hombre se encuentra expuesto constantemente a su inhalación. (Abarca, 2000).

2.4. Género *Penicillium*

Los penicilios son mohos comunes que desarrollan sobre los más diversos substratos: granos, paja, cueros, frutas, etc. Su identificación en base a las características morfológicas fue caótica hasta que Pitt (1980) normalizó las condiciones de cultivo y Frisvad (1981) consideró la formación de los metabolitos secundarios en la descripción de las especies. Las colonias de *Penicillium* alcanzan un tamaño de 35-60 mm de diámetro en 10 días, son planas o estriadas radialmente, y con áreas centrales aterciopeladas o ligeramente algodonosas, de aspecto compacto a causa de la abundante producción de conidios, y con gotitas de exudado claro y brillante. El micelio es inconspicuo, de color blanco o amarillo claro en las áreas algodonosas, pero la superficie de crecimiento fundamental está coloreada de verde. El reverso de la colonia es amarillo claro, marrón o naranja. Este género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides.

2.5. Género *Fusarium*

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas. Debido a su capacidad de crecer a 37°C, son considerados oportunistas. Pueden causar infecciones sistémicas en pacientes inmunocomprometidos, con una alta mortalidad. (Leslie J F, 2006)

Presenta especies fitopatógenos, la mayoría de ellas son saprófitas y relativamente abundantes en la microbiota del suelo, que causan graves

enfermedades principalmente en los cereales, aunque también puede afectar a otros vegetales y frutas. Su importancia no se debe tan solo a la pérdida de las cosechas, sino también a la producción de micotoxinas. Estas micotoxinas pueden estar presentes en los cereales y sus productos, ocasionando síndromes de intoxicación en animales y llegando a la cadena alimenticia de los humanos. Se considera que *Fusarium* es el género productor de toxinas de mayor prevalencia en las regiones templadas de hemisferio norte (Soriano del Castillo, 2007).

2.6. Micotoxinas

Los mohos crecen sobre los materiales vegetales produciendo el deterioro de los mismos. Forman metabolitos secundarios que actúan como antibióticos favoreciendo la prevalencia del moho frente a otros microorganismos, muchos de los cuales son tóxicos para plantas y/o animales. Estos metabolitos que enferman o matan a los animales que los consumen se conocen como micotoxinas y la afección se llama micotoxicosis. Las micotoxinas son compuestos ubicuos que difieren en sus propiedades químicas, biológicas y toxicológicas. Una micotoxicosis primaria se produce al consumir vegetales contaminados, y secundaria al ingerir carne o leche de animales que comieron forrajes con micotoxinas. (Carrillo, L. *et al.* 2003)

III. ANTECEDENTES

Hell, K. *et al.* 2009. Evaluaron 180 muestras de vegetales secos como okra, chile picante, tomate y otros recolectados en los meses de septiembre y octubre de 2006. La contaminación por hongos se evaluó en medio de cultivo selectivo con un total de 561 hongos aislados e identificados. Las hojas de Baobab, seguido de chile picante y okra mostraron alta incidencia de contaminación por hongos en comparación con las otras legumbres secas, mientras que las semillas de melón de cáscara, hojas de cebolla y tomate seco tenían menores niveles de contaminación por hongos. El género *Aspergillus* fue dominante en todos los productos secos comercializados.

Santos, L. *et al.* 2010. Determinaron en su investigación “Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in *Capsicum* powder samples available on the Spanish market” la ocurrencia de aflatoxinas, ocratoxina A y zearalenona en muestras de pimentón y ají chile adquiridas en España, utilizando el HPLC. En 64 muestras de ají paprika la ocurrencia de micotoxinas fue del 59% para las aflatoxinas, 98% para ocratoxina A y 39% para zearalenona, mientras que en las 35 muestras de ají chile, la contaminación fue del 40% para las aflatoxinas, 100% para ocratoxina A y 46% para zearalenona. La alta incidencia de contaminación por ocratoxina A sugiere una actualización en la legislación para estos tipos de condimentos.

Xing, Y. *et al.* 2011. hacen mención del efecto del recubrimiento del quitosano y aceite sobre las propiedades cualitativas del pimiento (*Capsicum annum* L.) almacenados a 8°C durante 35 días. El tratamiento de revestimiento de quitosano y aceite mostró un mejor efecto sobre el control de la descomposición al final del almacenamiento (por debajo del 5%), las muestras tratadas con recubrimientos de quitosano y aceite mantienen una

buena aceptabilidad sensorial, mientras que la calidad sensorial de las muestras de control fue inaceptable. El estudio sugiere que el revestimiento de quitosano y aceite puede ser un candidato prometedor para la mejora de la calidad de conservación de pimientos dulces.

Sindhu, S. *et al.* 2011. En su investigación denominada “Chemoprevention by essential oil of turmeric leaves (*Curcuma longa* L.) on the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production” hacen mención que la cúrcuma es conocida por su amplia gama de propiedades medicinales. El aceite esencial de la hojas de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) fue evaluado en diferentes concentraciones de 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 0,75, 1,0 y 1,5% (v/v) en caldo extracto de levadura sacarosa (YES) e inoculado con una suspensión de esporas de *Aspergillus flavus* de 10^6 conidios/mL. El aceite de hoja de cúrcuma mostró inhibición en el 95,3% y 100% en las concentraciones 1,0% y 1,5% respectivamente.

Gatto, M. *et al.* 2011. Hicieron uso de extractos de plantas como una alternativa útil a los fungicidas sintéticos para el manejo de la podredumbre producida por hongos durante la postcosecha de frutas y verduras. Se evaluó la actividad *in vitro* e *in vivo* de los extractos obtenidos de nueve especies silvestres herbáceas comestibles como *Borago officinalis*, *Orobancha crenata*, *Plantago coronopus*, *P. lanceolata*, *Sanguisorba minor*, *Silene vulgaris*, *Sonchus asper*, *Sonchus oleraceus*, y *Taraxacum officinale* contra algunos hongos patógenos postcosecha importantes como *Botrytis cinerea*, *Monilinia laxa*, *Penicillium digitatum*, *P. expansum*, *P. italicum*, *Aspergillus carbonarius* y *A. niger*. Los extractos de *S. minor* y *O. crenata* mostraron una mayor eficacia en todos los ensayos. En particular, *S. minor* fue inhibido completamente *in vitro* a nivel de la germinación de conidias de *M. laxa*, *P. digitatum*, *P. italicum* y *A. niger*. La eficacia de inhibición de los extractos fue atribuida a la presencia de algunos derivados y/o flavonoides del ácido cafeico.

Santos, L. *et al.* 2011. Determinaron la microbiota de *Capsicum* en muestras en polvo, prestando atención a los hongos micotoxigénicos; además se evaluaron los niveles de contaminación por aflatoxinas, ocratoxina A, zearalenona, deoxinivalenol, toxinas T2 y HT2 en muestras en polvo. Los géneros encontrados más frecuentemente fueron *Aspergillus* y *Eurotium*. *Aspergillus niger* tuvo una mayor frecuencia en las muestras. Otros géneros de hongos potencialmente micotoxigénicos encontrados fueron *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, pero en una frecuencia más baja. Todas las muestras estaban contaminadas con aflatoxinas y ocratoxina A en un 27%, con zearalenona en un 36% de ají chile y 18% de pimentón, con deoxinivalenol en un 9%, con Toxina T2 en un 6% y ninguna de las muestras contenía Toxina HT2.

Timóteo Dos Santos, N. *et al.* 2012. Señalan la eficacia de la aplicación combinada de quitosano y aceite esencial de *Origanum vulgare* en la inhibición de *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus niger* en medios de cultivo y en uva (*Vitis labrusca* L.). La aplicación de mezclas a diferentes concentraciones de quitosano y aceite esencial de orégano inhibió el crecimiento micelial de los hongos evaluados. Estos resultados demuestran el potencial de la combinación de quitosano y aceite esencial de orégano para el control postcosecha hongos patógenos en uva.

Prakash, B. *et al.* 2012. Señalan en su investigación denominada "Assessment of some essential oils as food preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activities and *in vivo* efficacy in food system" el potencial bioconservante en los alimentos por los aceites esenciales *Origanum majorana* L., *Coriandrum sativum* L., *Hedychium spicatum* Ham., *Commiphora myrrha*, y *Cananga odorata* basados en su eficacia antifúngica, antiaflatoxina, y antioxidante. Los aceites esenciales fueron más eficaces que algunos conservantes orgánicos como el ácido salicílico, BHT, ácido ascórbico y ácido gálico debido a que inhibieron el

crecimiento y la secreción de aflatoxina de *Aspergillus flavus* a concentraciones más bajas. La concentración mínima inhibitoria de los aceites esenciales contra la cepa toxigénica de *A. flavus* osciló entre 2,0 µl/mL y 3,0 µl/mL. Además, los aceites esenciales mostraron un amplio espectro fungitóxico frente a nueve hongos transmitidos por alimentos y una fuerte actividad antioxidante.

Lima de Sousa, L. *et al.* 2013. Evaluaron la eficacia de la aplicación de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* de forma individual y en combinación para inhibir el crecimiento de *Aspergillus flavus* URM 4540 y *Aspergillus niger* URM 5842 en *Vitis labrusca*. La aplicación de los aceites esenciales en los ensayos a diferentes concentraciones inhibió el crecimiento micelial de esporas y la germinación de los hongos. En general, la aplicación de aceite esencial de orégano y romero a concentraciones sub-letales conserva la calidad física, fisicoquímicas y atributos sensoriales de la uva a lo largo del tiempo de almacenamiento. Estos resultados demuestran el potencial de la combinación de aceite esencial de orégano y romero para controlar hongos patógenos como *A. flavus* y *A. niger* en frutos postcosecha, en particular, en la uva de mesa.

Stefanakis, M. *et al.* 2013. Estudiaron a tres especies miembros de la familia de Lamiaceae y género *Origanum* (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Origanum onites* L., y *Origanum Marjorana* L.) fueron estudiados por su composición química y actividad antibacteriana. Los aceites esenciales de estas plantas fueron tomados por medio de la destilación de microvapor y sus componentes se analizaron mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-EIMS). Los componentes principales identificados en las tres especies fueron carvacrol y timol. Los aceites se ensayaron como agentes potenciales de control antimicrobianos de alimentos. Los estudios *in vitro* mostraron que los aceites esenciales tienen

una fuerte actividad antimicrobiana frente a 5 bacteriana y 1 cepas de levadura.

Sivakumar, D. *et al.* 2014. Hacen mención en su revisión científica denominada “The use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage” que las enfermedades postcosecha son una de las principales causas de la pérdida de productos frescos hortícolas durante la cadena alimentaria. La incidencia de las enfermedades postcosecha puede afectar a la calidad y limitar la vida útil de los productos frescos hortícolas. En la actualidad, las estrictas regulaciones se hacen cumplir por los países importadores de productos alimenticios frescos con respecto a los niveles mínimos de residuos de plaguicidas de los productos alimenticios frescos. Se han reportado algunos hongos patógenos resistentes a los fungicidas sintéticos. La eliminación de los residuos de fungicidas tiene un impacto ambiental favorable. Todas las razones mencionadas anteriormente han hecho necesario la búsqueda de un nuevo fungicida natural para sustituir la aplicación de fungicidas sintéticos en la línea de empaque como un tratamiento postcosecha.

Van de Perre, E. *et al.* 2014. Desarrollaron un método de detección semicuantitativa para seis micotoxinas (alternariol (AOH), éter monometílico alternariol (AME), OTA y las fumonisinas (FB) B1, B2 y B3) importantes en diferentes productos como tomates, pimientos, cebollas y frutos rojos. En tomates, cebollas y frutos rojos se detectaron micotoxinas asociadas a *Alternaria spp.* Productos derivados del tomate también fueron examinados y seis de las 173 muestras fueron positivas para AOH y cuatro para AME. De otro lado, los productos derivadas de tomate 11/11, que contiene AOH o AME, también fueron positivos para el ácido tenuazónico (TeA). Este estudio demuestra la necesidad de una mayor investigación de micotoxinas en la cadena alimentaria de productos frescos con el fin de garantizar la seguridad y la salud de los consumidores.

Asgar A. *et al.* 2015. Evaluaron la eficacia de la combinación de aceite esencial de limón con quitosano como un recubrimiento comestible para el pimiento. El aceite esencial de limón a concentraciones de 0,5% y 1,0% se incorporó a una solución de quitosano de 0,5% y 1,0%. Se evaluó como un medio para controlar la antracnosis del pimiento *in vitro* e *in vivo*. El crecimiento fúngico fue efectivamente controlado por el aceite esencial a 0.5% y 1.0% *in vitro*. Se determinó que la concentración más eficaz de quitosano fue de 1%. Se halló que el aceite esencial era menos eficaz *in vivo*, sin embargo, la combinación de aceite esencial más quitosano mejoró la actividad antimicrobiana del recubrimiento. Los resultados *in vivo* demostraron que un recubrimiento comestible con la aplicación de 1.0% de quitosano + 0,5% aceite esencial fue significativamente mejor en el mantenimiento de la calidad de la fruta, sin embargo, con los resultados de incidencia de la enfermedad por antracnosis el quitosano es más eficaz en la extensión de la vida útil de la fruta.

Juárez, Z. *et al.* 2015. En su investigación "Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache mexicana* ssp. *Xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens" hacen mención que la composición química y la actividad antifúngica de los aceites esenciales extraídos de plantas endémicas mexicanas *Agastache mexicana* ssp. *Xolocotziana* y *Porophyllum linaria* fueron para evaluar la eficacia como sustituto de fungicidas sintéticos. Se utilizó la hidrodestilación y cromatografía de gases, y se identificó estragol y metil-eugenol como los principales componentes del aceite esencial de *A. mexicana*, mientras que en *P. Linaria* se encontró ácido linoleico y fitol como los principales componentes. Los resultados muestran una potente actividad antifúngica contra los hongos ensayados en concentraciones mínimas inhibitorias que van desde 0,3 hasta 30 µg/mL de *A. mexicana* y 0,0069 a 0,92 µg/mL de *P. Linaria*.

Pekmezovic, M. *et al.* 2015. Evaluaron las concentraciones mínimas fungicidas y su cinética del efecto antifúngico de los aceites esenciales de *Thymus vulgaris* L. y *Cinnamomum cassia* L. frente a esporas de *Aspergillus flavus*. Se desarrolló un modelo cinético individual de la actividad fungicida del aceite esencial de *T. vulgaris* y *C. cassia* y sus parámetros se utilizaron para hacer la mezcla de los aceites esenciales con una proporción óptima al individual. El sinergismo y la velocidad del efecto fungicida de las mezclas de los aceites esenciales se evaluaron frente a las esporas de *A. flavus*. El efecto fungicida más rápido se observó en la mezcla 14:1 del aceite esencial (después de 90 min), seguido de 7:1 (110 min) y 1:1 (180 min).

Elshafiea, H. *et al.* 2015. Evaluaron el potencial de la actividad fungicida de los aceites esenciales obtenidos de tomillo (*Thymus vulgaris*) y verbena (*Verbena officinalis*) frente a *Monilinia laxa*, *Monilinia fructigena*, y *Monilinia fructicola*. El aceite esencial de tomillo estaba compuesto principalmente por o-cimeno (56,2%), y el aceite esencial de verbena compuesto por citral (44,5%) y formiato de isobornilo (45,4%). Las concentraciones más altas de ambos aceites esenciales fueron para verbena (1000 ppm) y tomillo (500ppm) que redujo significativamente el diámetro de la lesión por podredumbre parda. La presente investigación reveló el papel potencial fungicida *in vivo* de los aceites esenciales en frutas de melocotón postcosecha.

Prakash, B. *et al.* 2015. hacen mención de la contaminación de los alimentos almacenados frecuentemente por hongos, micotoxinas y la generación de radicales libres debido al estrés oxidativo. Algunos productos químicos sintéticos utilizados como conservantes se han notificado de tener efectos nocivos para los consumidores y el ambiente. Diferentes aceites esenciales de plantas de origen natural, a menudo se han reportado tener un fuerte potencial antimicrobiano y antioxidante. Algunas formulaciones de aceite esencial se utilizan actualmente como conservantes de alimentos y se

mantienen en la categoría "GRAS" por su perfil favorable de seguridad alimentaria. Los aceites esenciales a base de plantas pueden ser utilizados como fumigantes para productos alimenticios almacenados. Por lo tanto, los aceites esenciales pueden desempeñar un papel importante en la recuperación de las pérdidas por almacenamiento y en la mejora del tiempo de conservación de los alimentos.

Patrignania, F. *et al.* 2015. Analizaron la creciente importancia de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas y la posible aplicación de los aceites esenciales y sus componentes como antimicrobiano natural. Las frutas y vegetales mínimamente procesados son uno de los sectores más importante en crecimiento en la industria alimentaria. Por otro lado, las etapas durante procesamiento como el lavado, si bien se lleva a cabo, pueden reducir parcialmente la microflora presente y el uso de desinfectantes es percibido negativamente por los consumidores. Por estas razones, los investigadores han propuesto algunas alternativas al uso de desinfectantes tradicionales, tales como aceites esenciales que son mezclas complejas de compuestos volátiles, caracterizados por un fuerte impacto sensorial y producido por muchas plantas como metabolitos secundarios.

Matusinskya, P. *et al.* 2015. Señalaron que los aceites esenciales de cinco especies de plantas medicinales y alimenticias fueron evaluadas como inhibidores del crecimiento del micelial de cinco especies de hongos patógenos que causan enfermedades en tallo y hoja de los cereales. Utilizaron el método de dilución en agar para determinar el efecto inhibitor y la dosis efectiva de los aceites esenciales extraídos de *Pimpinella anisum*, *Thymus vulgaris*, *Pelargonium odoratissimum*, *Rosmarinus officinalis* y *Foeniculum vulgare* contra los hongos *Oculimacula yallundae*, *Microdochium nivale*, *Zymoseptoria tritici*, *Pyrenophora teres* y *Fusarium culmorum*. Todos los aceites esenciales dificultaron el crecimiento de estos hongos. La mejor actividad antifúngica fue mostrada por *Thymus vulgaris*.

IV. MATERIALES Y METODOS

- **Lugar de ejecución.**

La investigación se realizó en los laboratorios de Microbiología y de Biología y Genética Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma, ubicada en la Avenida Benavides 5440 Santiago de Surco.

- **Diseño Experimental:**

El diseño experimental fue al azar, consistió en evaluar el crecimiento de los hongos fitopatógenos mediante cuatro tratamientos con aceites esenciales y repetidos por cinco veces para ser estadísticamente probable. Los aceites esenciales utilizados fueron de pimienta negra (*Piper nigrum*), romero (*Rosmarinus officinalis*) y orégano (*Origanum vulgare*). (Ver Anexos: Tablas N° 01, 02, 03 y 04).

4.1. Materiales:

- **Material Biológico.**

Se utilizó 10 kilogramos de ají paprika (*Capsicum annum* L.) procedente de la provincia de Virú, departamento de La Libertad ubicado en la parte Nor occidental del Perú. Por el norte limita con el Departamento de Lambayeque; por el sur con el Departamento de Ancash y Huánuco; por el este, con el Departamento de San Martín y Cajamarca; y por el oeste con el Océano Pacífico. Su coordenada geográfica es 8° 0' 0"S, 78° 30' 0" W.

Se localizó a los productores agrícolas de la zona para la compra del ají paprika, el cual no fue almacenado ni sometido a ningún tipo de producto de acción antifúngica.

- **Aceites Esenciales.**

Los aceites esenciales de pimienta negra (*Piper nigrum*), orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) con pureza especificada, método de extracción por arrastre de vapor y de grado alimentario, fueron adquiridos en la Compañía Edens Garden – USA.

4.2. Métodos:

4.2.1. Aislamiento e Identificación de Hongos mediante (Molds and Mycotoxins, Enumeration of Yeast and Mold in Food - Dilution Plating Technique).

El aislamiento de los hongos presentes en las muestras de ají paprika, se realizó de acuerdo a lo establecido en el procedimiento normalizado por la FDA para hongos.

Se utilizó el agar Sabourand de la marca Merck, el cual se preparó según las especificaciones del producto. La Solución Stock del antibiótico se preparó utilizando 0,1 g de cloranfenicol disuelto en 40 mL de agua destilada estéril, luego se añadió esta solución a un volumen de 960 mL de medio de cultivo esterilizado y temperado a 50°C y se mezcló para su homogenización, y posterior plaqueado en placas Petri.

Para el ensayo microbiológico se pesó 25g de la muestra de ají paprika y se añadió en un volumen de 225 mL de agua peptonada de la marca Merck al 0,1% para lograr una dilución de 10^{-1} . Seguidamente se hizo las diluciones seriadas respectivas hasta la dilución de 10^{-6} . Después, se tomó asépticamente 0,1 mL de la dilución 10^{-6} y se transfirió sobre la superficie de agar Sabourand solidificado en las placas Petri y se expandió el inóculo con una espátula de Drigalski estéril. Este procedimiento se hizo por duplicado. Luego se incubó las placas Petri en oscuridad a temperatura ambiente durante 12 días para el respectivo desarrollo de las colonias de hongos.

Para la lectura de las placas Petri se procedió a seleccionar las colonias individuales desarrolladas en agar Sabourand que presentaban las características macroscópicas similares con los hongos controles de *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani* y *Penicillium sp.*

4.2.2. Evaluación de la acción antifúngica de los tratamientos individuales y combinados a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% de los aceites esenciales de pimienta negra (*Piper nigrum*), orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre hongos postcosecha en ají paprika (*Capsicum annuum* L.)

La prueba *in vitro* se realizó en placas Petri con agar Sabourand que contenían tres diferentes tipos de aceites esenciales a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1.0% para el tratamiento individual y para el tratamiento combinado se utilizó los aceites esenciales (v/v) a las mismas concentraciones.

Los medios de cultivos con los tratamientos individuales y combinados se vertieron en placas Petri esterilizadas. Posteriormente, se realizó el explante discoidal del hongo con un diámetro de 5 mm, tomados con un sacabocado de una colonia de siete días de desarrollo, incubada a 25°C y se colocó en el centro de las placas de Petri con el tratamiento respectivo. El explante del hongo se incubó a 25°C durante 12 días, y para la evaluación se midió dos diámetros perpendiculares de la colonia con un Vernier cada 72 horas, para así poder calcular el promedio del crecimiento. Se realizó cinco repeticiones por cada tratamiento más un control con explante del hongo sin tratamiento para cada uno de los tratamientos con aceites esenciales individuales y combinados.

4.2.3. Análisis estadístico

El análisis de varianza de los datos obtenidos con la prueba de la actividad antifúngica *in vitro* se realizaron bajo un arreglo factorial completamente al azar A x B con cinco repeticiones, donde A = aceites esenciales y B = dosis.

A partir de los datos recopilados, se procedió a construir una base de datos que fue procesada con el soporte del paquete estadístico SPSS 22.0.

Para analizar los datos se procedió inicialmente con un análisis descriptivo calculando e interpretando estadísticos como medias y desviación estándar que muestren el comportamiento de la actividad antifúngica de los aceites esenciales, tanto de forma individual como combinada, en sus cuatro niveles de concentración y comparando con los resultados de los controles, asimismo se describió el comportamiento de esta actividad durante los 12 días (4 periodos de lectura). Para ello se considera importante el uso de gráficos de líneas múltiples que complementan los estadísticos descriptivos para una adecuada interpretación de los resultados.

V. RESULTADOS

5.1. Aislamiento e Identificación de Hongos mediante (Molds and Mycotoxins, Enumeration of Yeast and Mold in Food - Dilution Plating Technique).

Después del aislamiento se llegó a identificar en base a una comparación macroscópica los siguientes hongos: *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani* y *Penicillium sp.*

5.2. Evaluación de la acción antifúngica de los tratamientos individuales y combinados a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% de los aceites esenciales de pimienta negra (*Piper nigrum*), orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre hongos postcosecha en ají paprika (*Capsicum annuum L.*)

Luego de realizar los tratamientos *in vitro*, en forma individual y combinada, de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*), romero (*Rosmarinus officinalis*) y pimienta negra (*Piper nigrum*), sobre hongos postcosecha en ají paprika (*Capsicum annuum L.*): *Fusarium solani*, *Penicillium sp.* y *Aspergillus flavus* se determinó los resultados siguientes:

La acción del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a los hongos *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp* tuvieron un efecto

fungicida que se mantuvo durante los 12 días a una media del diámetro de crecimiento del hongo igual a 0,5 cm en todas las placas Petri a una temperatura ambiental (Ver tabla N° 05) (Gráficos N° 01, 02 y 03) para las cuatro concentraciones, debido a la presencia de principios activos, como el carvacrol, que ejercen una acción a nivel de las membranas mitocondriales por la disminución del potencial de membrana evidenciando una acción fungicida.

La acción del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a los hongos *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp.* tuvieron una acción fungistática que se presentó en los cuatro niveles de la concentración del aceite, observándose durante los 12 días un incremento en el diámetro del crecimiento. Los diámetros promedios de crecimiento para *Fusarium sp.* fueron de 6,4 cm., 4,9 cm., 5,1 cm. y 4,5 cm., en su décimo segundo día en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente. Los diámetros promedios de crecimiento para *Aspergillus sp.* fueron de 5,8 cm., 5,3 cm., 5,8 cm. y 6,0 cm., en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente y los diámetros promedios de crecimiento para *Penicillium sp.* fueron de 5,1cm., 4,3 cm., 2,9 cm. y 2,5 cm., en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente. (Ver tabla N° 06) (Gráfico N° 04, 05 y 06)

La acción del aceite esencial de pimienta negra (*Piper nigrum*) frente a los hongos *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp.* tuvieron una acción fungistática que se presentó en los cuatro niveles de las concentraciones del aceite esencial observándose durante los 12 días un incremento en el diámetro del crecimiento. Los diámetros promedios de crecimiento para *Fusarium sp.* fueron de 6,5 cm., 6,4 cm., 6,3 cm. y 6,2 cm., en su décimo segundo día en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente. Los diámetros promedios de crecimiento para *Aspergillus sp.* fueron de 5,8 cm., 5,6 cm., 6,4 cm. y 6,9 cm., en concentraciones de

0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente y los diámetros promedios de crecimiento para *Penicillium sp.* fueron de 6,0 cm., 5,8 cm., 4,4 cm. y 5,1 cm., en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente. (Ver tabla N° 07) (Gráfico N° 07, 08 y 09)

La acción del tratamiento combinado con los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*), romero (*Rosmarinus officinalis*) y pimienta negra (*Piper nigrum*), frente a los hongos *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp.* tuvieron un efecto fungicida que se mantuvo durante los 12 días a una media del diámetro de crecimiento del hongo igual a 0,5 cm en todas las placas Petri (Ver tabla N° 08) (Gráfico N° 10, 11 y 12) para las cuatro concentraciones debido a la presencia del carvacrol.

VI. DISCUSIÓN

En la presente investigación sobre los aceites esenciales utilizados de orégano (*Origanum vulgare*), romero (*Rosmarinus officinalis*) y pimienta negra (*Piper nigrum*) frente a los hongos *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp.* hemos determinado que el aceite esencial de orégano presenta una acción fungicida a comparación de los aceites esenciales de romero y pimienta negra, que no ejercen ninguna acción frente al desarrollo de los hongos utilizados. Según Gatto, M. *et al.*, utilizaron el extracto de varias plantas como una alternativa de uso frente a los fungicidas sintético, para el manejo de hongos postcosecha de frutas y verduras, donde se evidencio la eficacia de *Sanguisorba minor* “pimpinella” frente a la inhibición de diferentes hongos patógenos como *Aspergillus* y *Penicillium*.

Así mismo, Timoteo Dos Santos, N. *et al.*, realizaron un ensayo donde aplicaron quitosano combinado con aceite esencial de orégano a diferentes concentraciones y obtuvieron la inhibición de crecimiento micelial de los hongos *Aspergillus niger* y *Rhizopus stolonifer* en *Vitis labrusca* “uva”, pero al compararlo con nuestra investigación vemos que la acción del orégano es la misma para la inhibición de los hongos utilizados; pero Prakash, B. *et al.*, trabajaron con la concentración de aceite esencial de orégano que osciló entre 2,0 $\mu\text{l/mL}$ y 3,0 $\mu\text{l/mL}$., entonces podemos afirmar que la concentración del aceite esencial orégano tiene un potencial efecto fungicida.

Estos resultados obtenidos concuerdan con los datos de Lima de Sousa, L. *et al.*, que también evaluaron la eficacia de los aceites esenciales del orégano y romero de forma individual y en combinación para inhibir el crecimiento de *Aspergillus*; pero que el orégano tiene mayor capacidad inhibitoria que el romero.

El aceite esencial de orégano tiene dos componentes principales que son el carvacrol y timol según estudios realizados por Stefanakis M. *et al.*, que son los responsables de su actividad antifúngica.

Las enfermedades postcosecha son una de las principales causas de la pérdida de productos frescos hortícolas durante la cadena alimentaria. Esta incidencia puede afectar a la calidad y limitar la vida útil de los productos frescos hortícolas; pero se han reportado algunos hongos patógenos resistentes a los fungicidas sintéticos (Sivakumar, D. *et al.*), lo que hace necesaria esta investigación porque los aceites esenciales serían un nuevo fungicida natural para sustituir estos productos sintéticos.

Algunas formulaciones de aceite esencial se utilizan actualmente como conservantes de alimentos y se mantienen en la categoría "GRAS" por su perfil favorable de seguridad alimentaria. Los aceites esenciales a base de plantas pueden ser utilizados como fumigantes para productos alimenticios almacenados. Por lo tanto, los aceites esenciales pueden desempeñar un papel importante en la recuperación de las pérdidas por almacenamiento y en la mejora del tiempo de conservación de los alimentos (Prakash, B. *et al.*), esto es corroborado con nuestra investigación, visto que con el aceite esencial de orégano se logró comprobar que este tiene una capacidad fungicida.

VII. CONCLUSIONES

Se determinó que la acción del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a los hongos *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp.* tuvo un efecto fungicida sobre su crecimiento. Esto se verificó en el medio de cultivo con aceite esencial de orégano que solo presentaba el explante de 0,5 cm de diámetro para todas las concentraciones del tratamiento individual.

Se determinó que la acción de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y de pimienta negra (*Piper nigrum*) frente a los hongos *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp.* tuvieron una acción fungistática sobre su crecimiento. Para el aceite esencial de romero los diámetros promedios de crecimiento para *Fusarium solani* fueron de 6,4 cm., 4,9 cm., 5,1 cm. y 4,5 cm., en su décimo segundo día en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente. Los diámetros promedios de crecimiento para *Aspergillus flavus* fueron de 5,8 cm., 5,3 cm., 5,8 cm. y 6,0 cm., en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente y los diámetros promedios de crecimiento para *Penicillium sp.* fueron de 5,1 cm., 4,3 cm., 2,9 cm. y 2,5 cm., en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente. Así mismo, para el aceite esencial de pimienta negra los diámetros promedios de crecimiento para *Fusarium solani* fueron de 6,5 cm., 6,4 cm., 6,3 cm. y 6,2 cm., en su décimo segundo día en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente. Los diámetros promedios de crecimiento para *Aspergillus flavus* fueron de 5,8 cm., 5,6 cm., 6,4 cm. y 6,9 cm., en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente y los diámetros promedios de crecimiento para *Penicillium sp.* fueron de 6,0 cm., 5,8 cm., 4,4 cm. y 5,1 cm., en concentraciones de 0,3%, 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente.

Se comprobó que la acción de los aceites esenciales en el tratamiento combinado con orégano (*Origanum vulgare*), romero (*Rosmarinus officinalis*) y pimienta negra (*Piper nigrum*), frente a los hongos *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp.* tuvieron un efecto fungicida sobre el crecimiento. Esto se verificó al no observar crecimiento sobre los explantes colocados en el medio de cultivo con aceite esencial.

VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca, M^a Lourdes (2000). Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. Rev Iberoam Micol 2000; 17: S79-S84.
- Armstrong. J.S. (2006). Mitochondrial membrane permeabilización: the sine qua non for cell death. BioEssays 28, 253-260.
- Asgar, Ali; Nurasyikin, Mohd Noh and Maysoun A. Mustafa. 2015. Antimicrobial activity of chitosan enriched with lemongrass oil against anthracnose of bell pepper. Food Packagin Gand shelf Life, 3 (2015) 56-61.

- Bacteriological Analytical Manual on Line. FDA 8th Ed. Rev. A / 1998. Revised: April 2003, Chapter 18.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Blázquez, M.A. (2014). Role of natural essential oils in sustainable agriculture and food preservation. *Journal of Scientific Research & Reports*, 3(14), 1843-1860
- Carrillo L, Gómez Molina Se. (2003). *Manual de Microbiología de los Alimentos – capítulo 9*.
- Da Cruz Cabral, Lucía; Fernández Pinto, Virginia and Patriarca, Andrea. 2013. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 166 (2013) 1–14.
- Da Silveira, S.M., Bittencourt, F.L., Fronza, N., Cunha, A., Jr., Scheuermann, G.N., & Werneck Vieira, C.R. (2014). Chemical Composition And Antibacterial Activity Of *Laurus Nobilis* Essential Oil Towards Foodborne Pathogens And Its Application In Fresh Tuscan Sausage Stored At 7 °c. *Lwt- Food Science & Technology*, 59, 86-93.
- Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.

- Elshafiea, Hazem S.; Mancini, Emilia; Camelea, Ippolito; De Martino, Laura and De Feo, Vincenzo. 2015. In vivo antifungal activity of two essential oils from Mediterranean plants against postharvest brown rot disease of peach fruit. *Industrial Crops and Products*, 66 (2015) 11–15.
- Fisher, K., & Phillips, C. A. (2006). The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*, 101(6), 1232-1240.
- Frisvad JC *et al.* 1992. New selective media for the detection of toxigenic fungi in cereal products, meat, and cheese. pp. 275-284 en: *Modern Methods in Food Mycology*. Samson RA *et al.*, editores. Elsevier, Amsterdam.
- Gatto, Maria Antonia; Ippolito, Antonio; Linsalata, Vito; Cascarano, Nicholas A.; Nigro, Franco; Hell, K., Gnonlonfin, B.; Kodjogbe, G.; Lamboni, Y. and Abdourhamane, I. 2009. Mycoflora and occurrence of aflatoxin in dried vegetables in Benin, Mali and Togo, West Africa. *International Journal of Food Microbiology*, 135 (2009) 99-104.
- Juárez, Zaida N.; Hernández, Luis R.; Bacha, Hagar; Sánchez-Arreola, Eugenio and Bach, Horacio. 2015. Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens. *Industrial Crops and Products* 74 (2015) 178–182.
- Kumara, Vinod; Basua, M.S. and Rajendran, T.P. 2008. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. *Crop Protection*, 27 (2008) 891–905.

- Leslie J F, Summerell B A. The Fusarium Laboratory Manual. Ed. Wiley- Blackwell. 2006.
- Lima de Sousa, Larissa; Albuquerque de Andrade, Sonálle Carolina Alves Aguiar Athayde; Ana Júlia; Vasconcelos de Oliveira, Carlos Eduardo; Veríssimo de Sales, Camila; Suely Madruga, Marta and Leite de Souza, Evandro. 2013. Efficacy of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* essential oils in combination to control postharvest pathogenic Aspergilli and autochthonous mycoflora in *Vitis labrusca* L. International Journal of Food Microbiology, 165 (2013) 312–318.
- Matusinsky, Pavel; Zouhar, Miloslav; Pavel, Roman and Novy, Pavel. 2015. Antifungal effect of five essential oils against important pathogenic fungi of cereals. Industrial Crops and Products, 67 (2015) 208–215.
- Patrignania, Francesca; Siroli, Lorenzo; Serrazanetti, Diana; Gardini, Fausto and Lanciottia, Rosalba. 2015. Innovative strategies based on the use of essential oils and their components to improve safety, shelflife and quality of minimally processed fruits and vegetables. Trends in Food Science & Technology, 21 (2015) 1-12.
- Pekmezovic, M.; Rajkovic, K.; Barac, A.; Senerovic, L. and Arsenijevic, V. 2015. Development of kinetic model for testing antifungal effect of *Thymus vulgaris* L. and *Cinnamomum cassia* L. essential oils on *Aspergillus flavus* spores and application for optimization of synergistic effect. Biochemical Engineering Journal 99 (2015) 131–137.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). Fungi and food spoilage (Vol. 519). New York: Springer.

- Prakash, Bhanu; Singh, Priyanka; Kedia, Akash and Dubey, N. 2012. Assessment of some essential oils as food preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activities and in vivo efficacy in food system. *Food Research International*, 49 (2012) 201–208.
- Prakash, Bhanu; Kedia, Akash; Kumar Mishra, Prashant and Dubey, N.K. 2015. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities e Potentials and challenges. *Food Control*, 47 (2015) 381-391
- Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias Comisión del Codex Alimentarius 35° Período de sesiones Roma, Italia. 2012.
- Proyecto BID-ADEX-RTA. 2009. Paprika Seca Entera.
- Rivera Calo, Julianny; Crandall, Philip G.; O'Bryan, Corliss A. and Ricke, Steven C. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems. *Food Control*, 54 (2015) 111-119.
- Santamarina, M.P., Roselló, J., Giménez, S., Blázquez, M.A. (2015). Commercial *Laurus nobilis* L. and *Syzygium aromatic* L. Merr. & Perry essential oils against postharvested phytopathogenic fungi on rice. *Food science and technology*. 65, 325-332.
- Santos, L.; Marín, S.; Mateo, E.M.; Gil-Serna, J.; Valle-Algarra, F.M.; Patiño, B. and Ramos, A.J. 2011. Mycobiota and co-occurrence of mycotoxins in *Capsicum* powder L. *International Journal of Food Microbiology*, 151 (2011) 270–276.
- Santos, L.; Marín, S.; Sanchis, V. and Ramos; A.J. 2010. Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in *Capsicum*

powder samples available on the Spanish market. *Food Chemistry*, 122 (2010) 826–830.

- Sindhu, S.; Chempakam, B.; Leela, N.K. and Bhai, R. Suseela. 2011. Chemoprevention by essential oil of turmeric leaves (*Curcuma longa* L.) on the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (2011) 1188-1192.
- Sivakumar, Dharini and Bautista-Baños, Silvia. 2014. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Crop Protection*, 64 (2014) 27-37.
- Soriano Del Castillo, J. M. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. Ediciones Díaz de Santos
- Stefanakis, Michalis K.; Touloupakis, Eleftherios; Anastasopoulos, Elias; Ghanotakis, Dimitrios; Katerinopoulos, Haralambos E. and Makridis, Pavlos. 2013. Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. *Food Control*, 34 (2013) 539-546.
- Timóteo dos Santos, Nereide Serafim; Athayde Aguiar, Ana Júlia Alves; Vasconcelos de Oliveira, Carlos Eduardo; Veríssimo de Sales, Camila; Silva, Silvanda de Melo; Sousa da Silva, Rosana; Montenegro Stamford, Thayza Christina and Leite de Souza, Evandro. 2012. Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). *Food Microbiology*, 32 (2012) 345-353.
- Van de Perre, Evelien; Deschuyffeleer, Nick; Jacxsens, Liesbeth; Vekeman, Femke; Van Der Hauwaert, Wendy; Asam, Stefan; Rychlik, Michael; Devlieghere, Frank and De Meulenaer, Bruno. 2014.

Screening of moulds and mycotoxins in tomatoes, bell peppers, onions, soft red fruits and derived tomato products. *Food Control*, 37 (2014) 165-170.

- Vanadia, Sebastiano and Di Venere, Donato. 2011. Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 61 (2011) 72–82.
- Xing, Yage; Li, Xihong; Xu, Qinglian; Yun, Juan; Lu, Yaqing and Tang, Yao. 2011. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, 124 (2011) 1443–1450.

IX. ANEXOS

9.1. Tablas:

Tabla N° 01: Diseño experimental de las concentraciones de Aceite Esencial de Pimienta negra (*Piper nigrum*)

Tiempo (días)	Concentraciones de Aceite Esencial de Pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>)				
	0.3%	0.5%	0.7%	1%	Control
0	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.
1					
2					
3					
4					
5	-	-	-	-	-
6	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.
7					
8					
9					
10					
11					
12					

Tabla N° 02: Diseño experimental de las Concentraciones de Aceite Esencial de Romero (*Rosmarinus officinalis*)

Tiempo (días)	Concentraciones de Aceite Esencial de Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)				
	0.3%	0.5%	0.7%	1%	Control
0	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.
1					
2					
3					
4					
5	-	-	-	-	-
6	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.
7					
8					
9					
10					
11					
12					

Tabla N° 03: Diseño experimental de las Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano (*Origanum vulgare*)

Tiempo (días)	Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano (<i>Origanum vulgare</i>)				
	0.3%	0.5%	0.7%	1%	Control
0	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.
1					
2					
3					
4					
5	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					

Tabla N° 04: Concentraciones de Aceite Esencial de Pimienta negra (*Piper nigrum*), Romero (*Rosmarinus officinalis*) y Orégano (*Origanum vulgare*)

Tiempo (días)	Concentraciones de Aceite Esencial de Pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>), Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) y Orégano (<i>Origanum vulgare</i>)				
	0.3%	0.5%	0.7%	1%	Control
0	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.	5 repeticiones por tratamiento.
1					
2					
3					
4					
5	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.	Mediciones del diámetro de crecimiento del hongo.
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					

Tabla N° 05: Datos de las mediciones del diámetro de crecimiento promedios asociados a la actividad antifúngica del orégano (*Origanum vulgare*) frente a los hongos postcosecha *Fusarium solani*, *Penicillium sp.* y *Aspergillus flavus* en concentraciones de 0,3; 0,5; 0,7 y 1% y control.

Concentración	Hongo <i>Fusarium</i>				Hongo <i>Penicillium</i>				Hongo <i>Aspergillus</i>			
	3 d	6 d	9 d	12 d	3 d	6 d	9 d	12 d	3 d	6 d	9 d	12 d
	PROMEDIO ± DE				PROMEDIO ± DE				PROMEDIO ± DE			
0,3%	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
0,5%	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
0,7%	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
1%	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
Control c/twin	1,4 ± 0,7	2,4 ± 0,9	3,5 ± 1,1	4,4 ± 1,5	1,2 ± 0,3	1,8 ± 0,4	2,2 ± 0,6	2,6 ± 0,5	1,6 ± 0,1	4,1 ± 0,2	6,3 ± 0,8	7,4 ± 1,1
Control s/twin	1,1 ± 0,3	2,1 ± 0,8	3,2 ± 1,3	4,4 ± 1,9	1,4 ± 0,4	2,2 ± 0,3	2,7 ± 0,7	3,5 ± 0,8	2,0 ± 0,7	4,0 ± 1,2	5,0 ± 1,4	5,6 ± 1,8

Tabla N° 06: Datos de las mediciones del diámetro de crecimiento promedios asociados a la actividad antifúngica del romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a los hongos postcosecha *Fusarium solani*, *Penicillium sp.* y *Aspergillus flavus* en concentraciones de 0,3; 0,5; 0,7 y 1% y control.

	Hongo <i>Fusarium</i>				Hongo <i>Penicillium</i>				Hongo <i>Aspergillus</i>			
	3 d	6 d	9 d	12 d	3 d	6 d	9 d	12 d	3 d	6 d	9 d	12 d
Concentración	PROMEDIO ± DE				PROMEDIO ± DE				PROMEDIO ± DE			
0,3%	2,6 ± 0,2	3,8 ± 0,2	5,5 ± 0,1	6,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,7 ± 0,1	4,4 ± 0,6	5,1 ± 0,5	3,1 ± 0,8	3,7 ± 1,1	4,4 ± 1,3	5,8 ± 1,7
0,5%	1,8 ± 0,7	2,5 ± 0,7	4,3 ± 1,0	4,9 ± 1,0	0,8 ± 0,2	1,5 ± 0,2	3,3 ± 0,7	4,3 ± 0,4	2,0 ± 0,4	3,2 ± 0,8	3,9 ± 1,1	5,3 ± 1,3
0,7%	1,8 ± 0,3	2,7 ± 0,2	4,5 ± 0,2	5,1 ± 0,2	0,5 ± 0,1	1,0 ± 0,2	2,0 ± 0,5	2,9 ± 0,5	1,5 ± 0,2	3,0 ± 0,6	4,6 ± 1,5	5,8 ± 1,4
1%	1,2 ± 0,3	2,2 ± 0,3	3,8 ± 0,2	4,5 ± 0,3	0,5 ± 0,2	0,8 ± 0,1	1,6 ± 0,1	2,5 ± 0,2	1,4 ± 0,5	2,9 ± 0,7	4,5 ± 1,4	6,0 ± 1,2
Control c/twin	1,4 ± 0,7	2,4 ± 0,9	3,5 ± 1,1	4,4 ± 1,5	1,2 ± 0,3	1,8 ± 0,4	2,2 ± 0,6	2,6 ± 0,5	1,6 ± 0,1	4,1 ± 0,2	6,3 ± 0,8	7,4 ± 1,1
Control s/twin	1,1 ± 0,3	2,1 ± 0,8	3,2 ± 1,3	4,4 ± 1,9	1,4 ± 0,4	2,2 ± 0,3	2,7 ± 0,7	3,5 ± 0,8	2,0 ± 0,7	4,0 ± 1,2	5,0 ± 1,4	5,6 ± 1,8

Tabla N° 07: Datos de las mediciones del diámetro de crecimiento promedios asociados a la actividad antifúngica de la pimienta negra (*Piper nigrum*) frente a los hongos postcosecha *Fusarium solani*, *Penicillium sp.* y *Aspergillus flavus* en concentraciones de 0,3; 0,5; 0,7 y 1% y control.

Concentración	Hongo <i>Fusarium</i>				Hongo <i>Penicillium</i>				Hongo <i>Aspergillus</i>			
	3 d	6 d	9 d	12 d	3 d	6 d	9 d	12 d	3 d	6 d	9 d	12 d
	PROMEDIO ± DE				PROMEDIO ± DE				PROMEDIO ± DE			
0,3%	2,7 ± 0,3	3,9 ± 0,1	5,8 ± 0,2	6,5 ± 0,1	1,7 ± 0,1	2,9 ± 0,2	5,3 ± 0,4	6,0 ± 0,2	2,4 ± 0,4	3,8 ± 0,8	4,8 ± 1,4	5,8 ± 1,4
0,5%	2,7 ± 0,2	3,8 ± 0,3	5,7 ± 0,4	6,4 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,8 ± 0,2	4,5 ± 0,7	5,8 ± 0,6	2,3 ± 0,5	3,6 ± 1,2	4,5 ± 1,3	5,6 ± 1,6
0,7%	2,7 ± 0,1	3,9 ± 0,1	5,8 ± 0,1	6,3 ± 0,1	1,6 ± 0,2	2,4 ± 0,2	3,8 ± 0,4	4,4 ± 0,6	2,3 ± 0,4	3,4 ± 0,6	5,3 ± 1,2	6,4 ± 1,6
1%	2,6 ± 0,3	3,7 ± 0,1	5,5 ± 0,1	6,2 ± 0,1	1,6 ± 0,2	2,5 ± 0,3	4,4 ± 0,4	5,1 ± 0,6	2,0 ± 0,6	3,5 ± 0,7	5,7 ± 1,3	6,9 ± 1,7
Control c/twin	1,4 ± 0,7	2,4 ± 0,9	3,5 ± 1,1	4,4 ± 1,5	1,2 ± 0,3	1,8 ± 0,4	2,2 ± 0,6	2,6 ± 0,5	1,6 ± 0,1	4,1 ± 0,2	6,3 ± 0,8	7,4 ± 1,1
Control s/twin	1,1 ± 0,3	2,1 ± 0,8	3,2 ± 1,3	4,4 ± 1,9	1,4 ± 0,4	2,2 ± 0,3	2,7 ± 0,7	3,5 ± 0,8	2,0 ± 0,7	4,0 ± 1,2	5,0 ± 1,4	5,6 ± 1,8

Tabla N° 08: Datos de las mediciones del diámetro de crecimiento promedios asociados a la actividad antifúngica de orégano, romero y pimienta negra frente a los hongos postcosecha *Fusarium solani*, *Penicillium sp.* y *Aspergillus flavus* en concentraciones de 0,3; 0,5; 0,7 y 1% y control.

Concentración	Hongo <i>Fusarium</i>				Hongo <i>Penicillium</i>				Hongo <i>Aspergillus</i>			
	3 d	6 d	9 d	12 d	3 d	6 d	9 d	12 d	3 d	6 d	9 d	12 d
	PROMEDIO ± DE				PROMEDIO ± DE				PROMEDIO ± DE			
0,3%	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
0,5%	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
0,7%	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
1%	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
Control c/twin	1,4 ± 0,7	2,4 ± 0,9	3,5 ± 1,1	4,4 ± 1,5	1,2 ± 0,3	1,8 ± 0,4	2,2 ± 0,6	2,6 ± 0,5	1,6 ± 0,1	4,1 ± 0,2	6,3 ± 0,8	7,4 ± 1,1
Control s/twin	1,1 ± 0,3	2,1 ± 0,8	3,2 ± 1,3	4,4 ± 1,9	1,4 ± 0,4	2,2 ± 0,3	2,7 ± 0,7	3,5 ± 0,8	2,0 ± 0,7	4 ± 1,2	5,0 ± 1,4	5,6 ± 1,8

9.2. Gráficos:

Gráfico N° 01: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Fusarium solani*

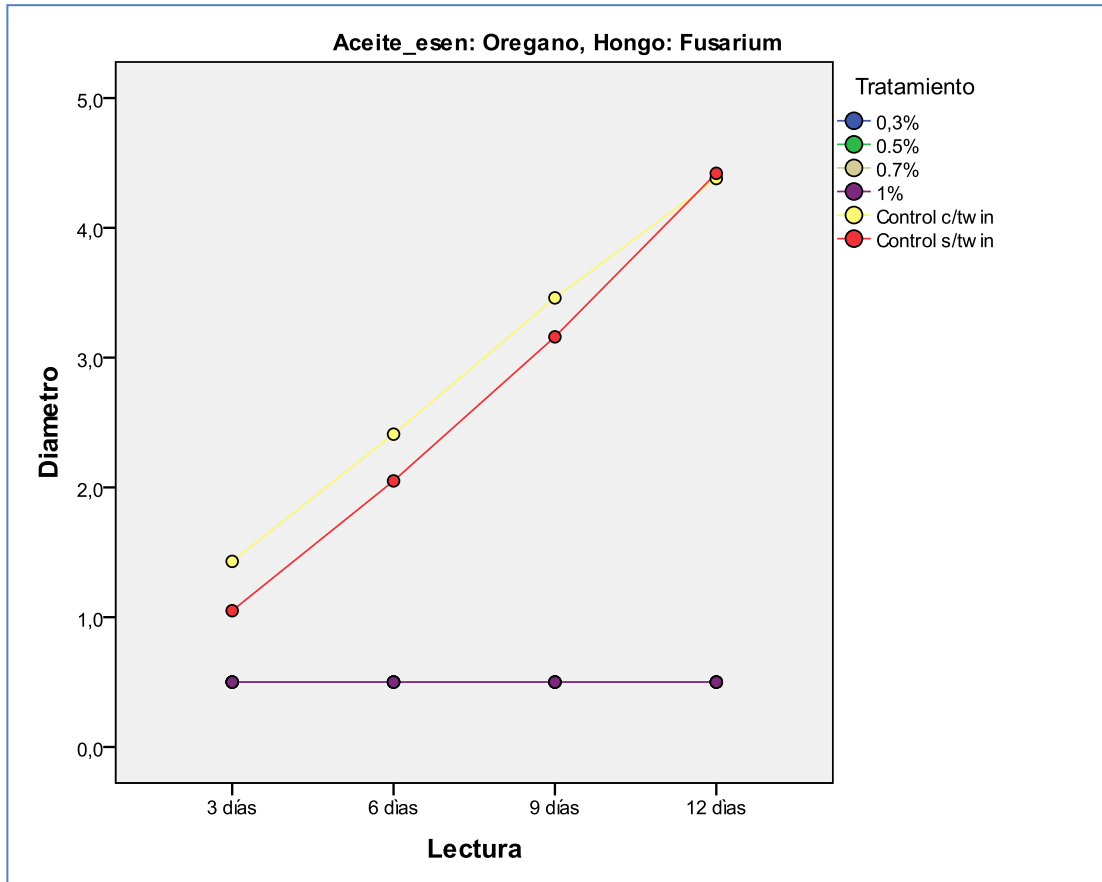


Gráfico N° 02: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Penicillium sp.*

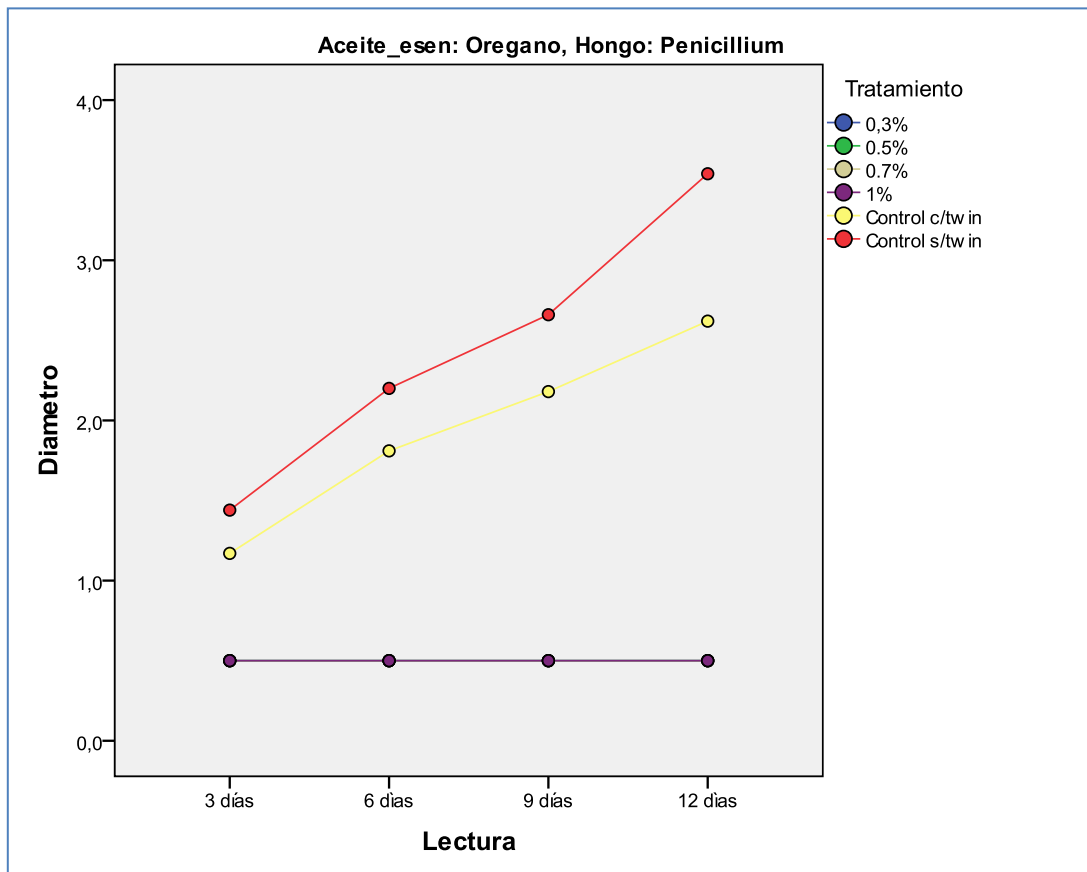


Gráfico N° 03: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Aspergillus flavus*

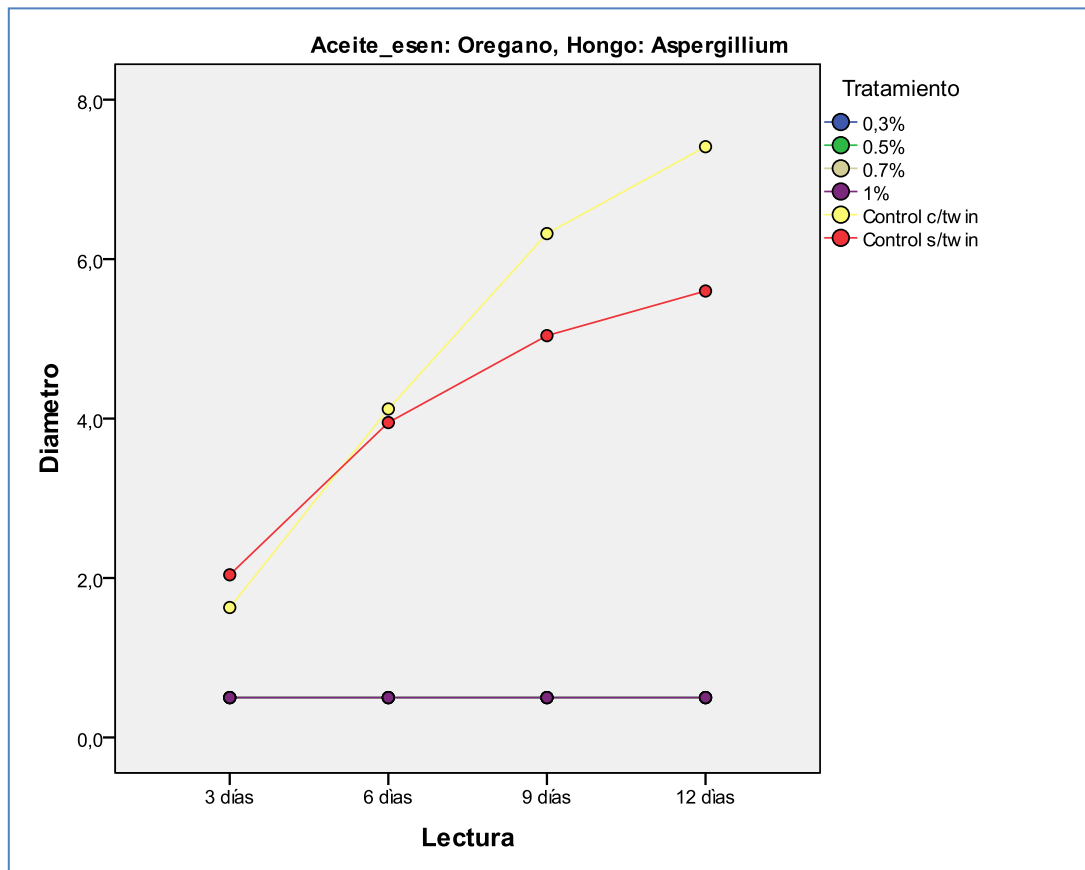


Gráfico N° 04: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Fusarium solani*

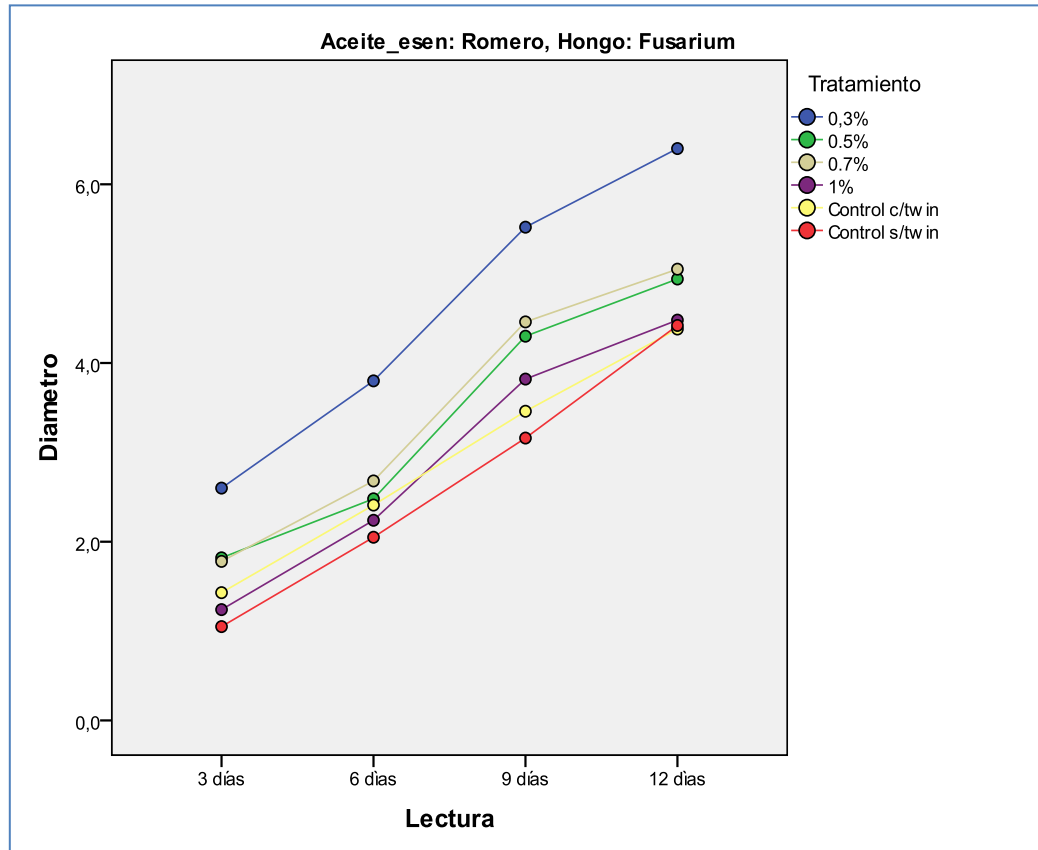


Gráfico N° 05: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Penicillium sp.*

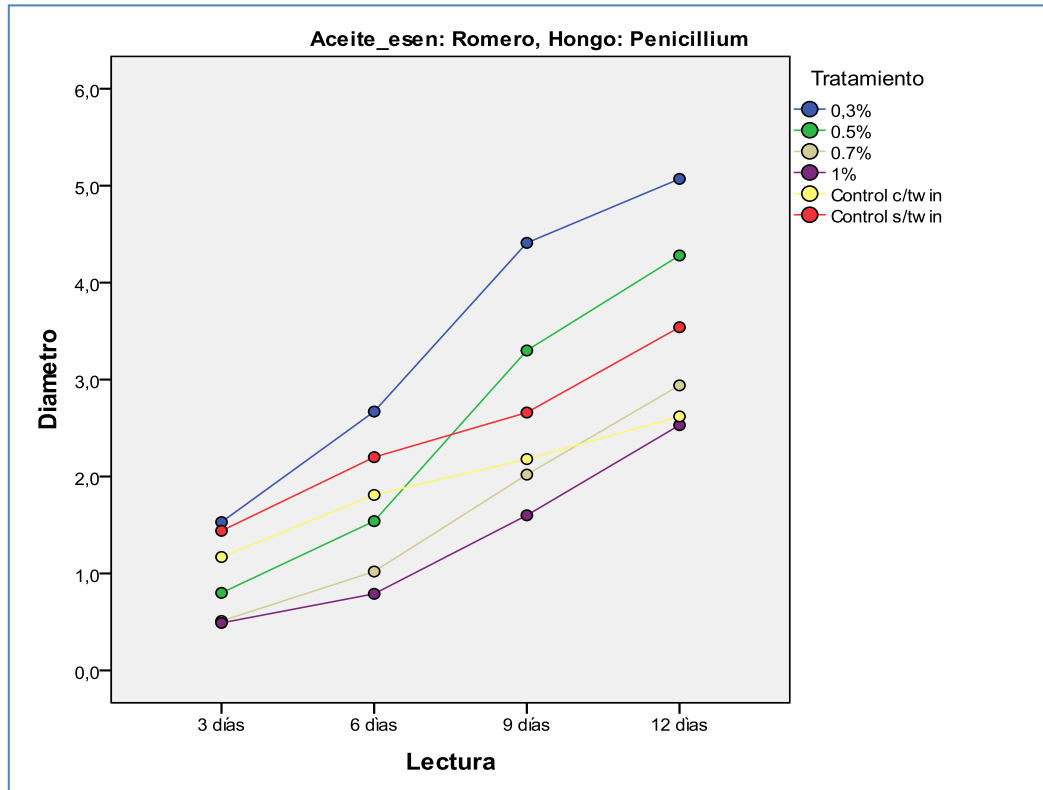


Gráfico N° 06: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Aspergillus flavus*

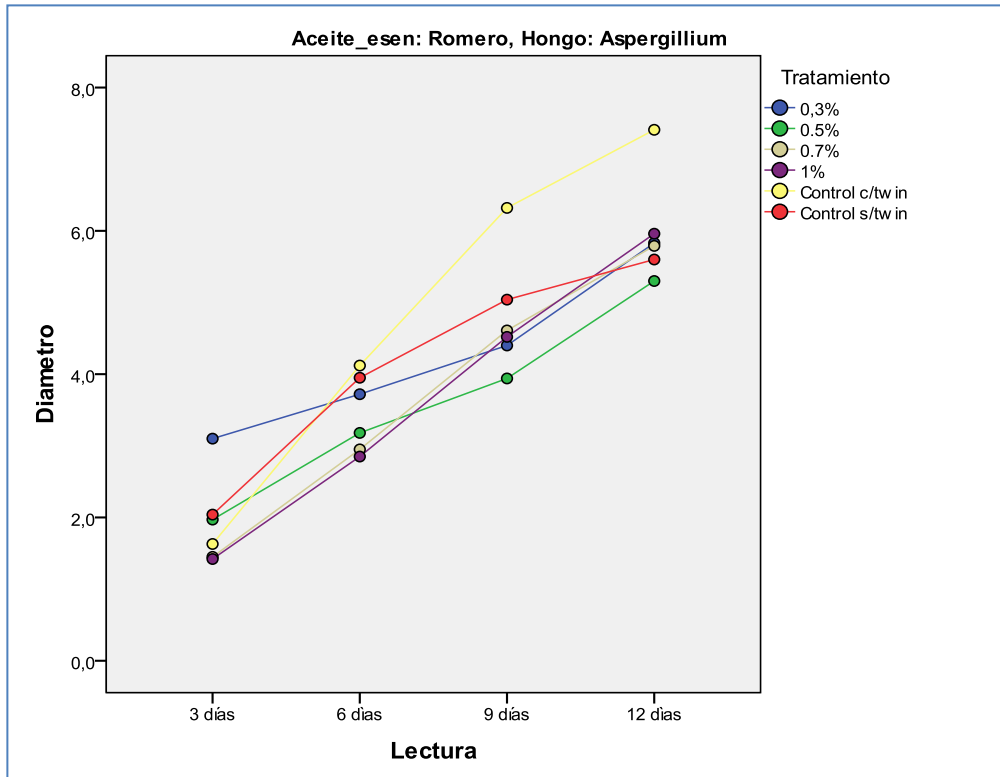


Gráfico N° 07: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de pimienta negra (*Piper nigrum*) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Fusarium solani*

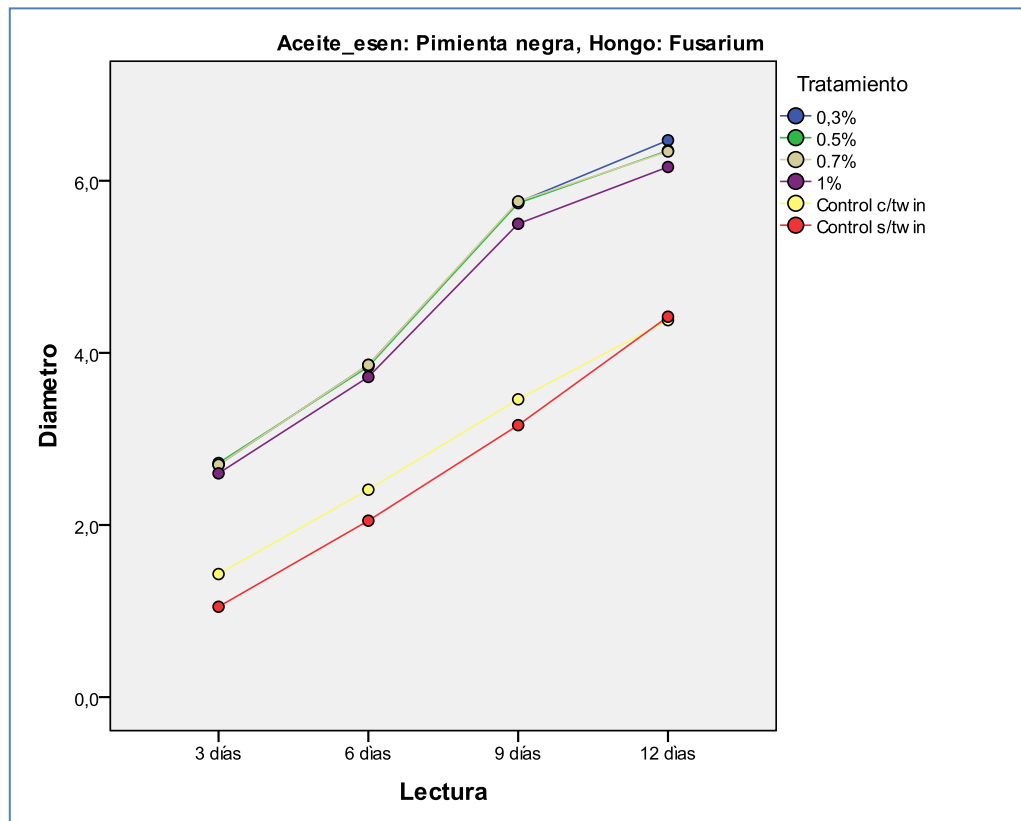


Gráfico N° 08: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de pimienta negra (*Piper nigrum*) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Penicillium sp.*

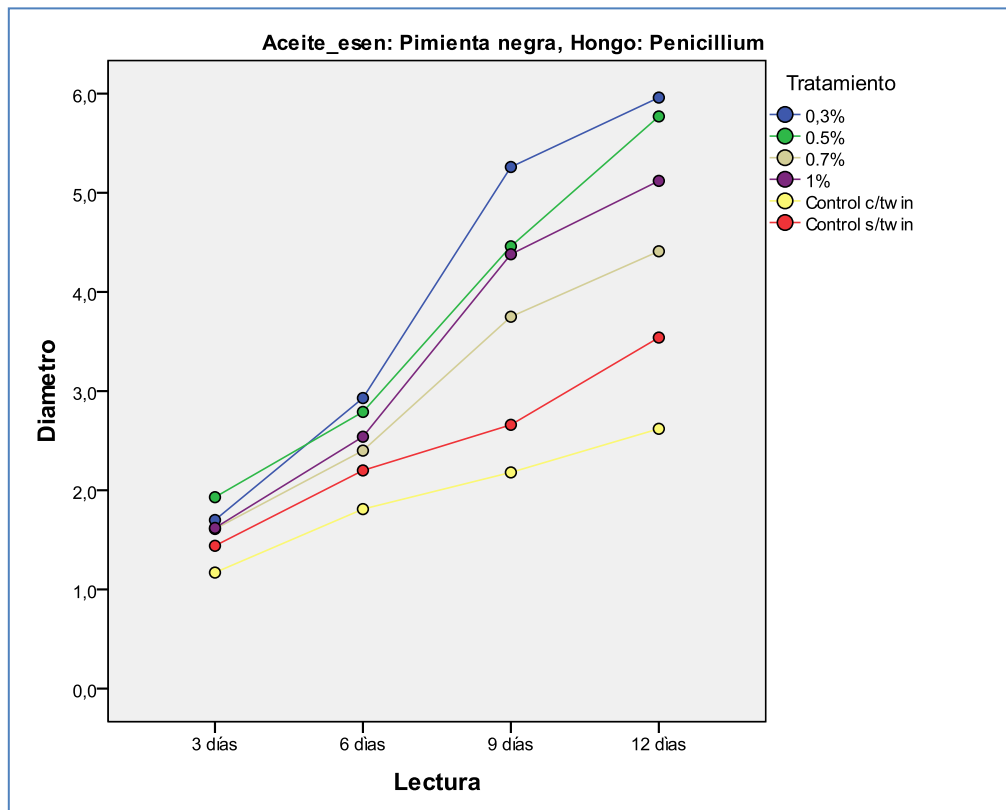


Gráfico N° 09: Actividad antifúngica del tratamiento individual del aceite esencial de pimienta negra (*Piper nigrum*) a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Aspergillus flavus*

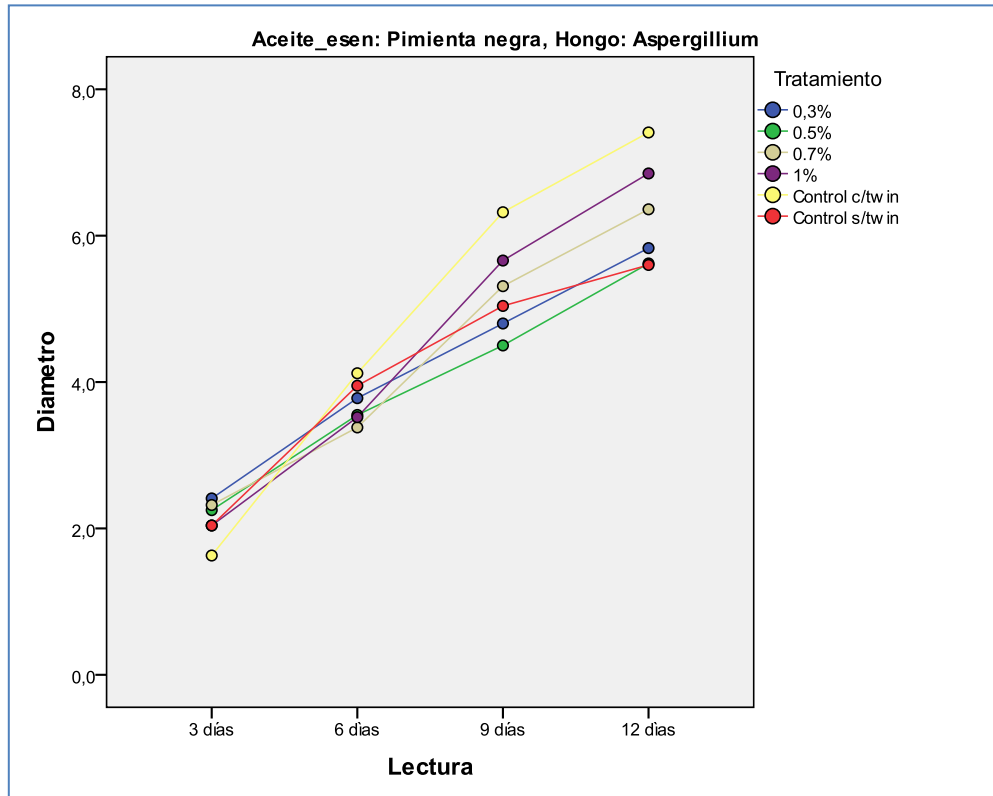


Gráfico N°10: Actividad antifúngica del tratamiento combinado de los aceites esenciales de pimienta negra, romero y orégano a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Fusarium solani*

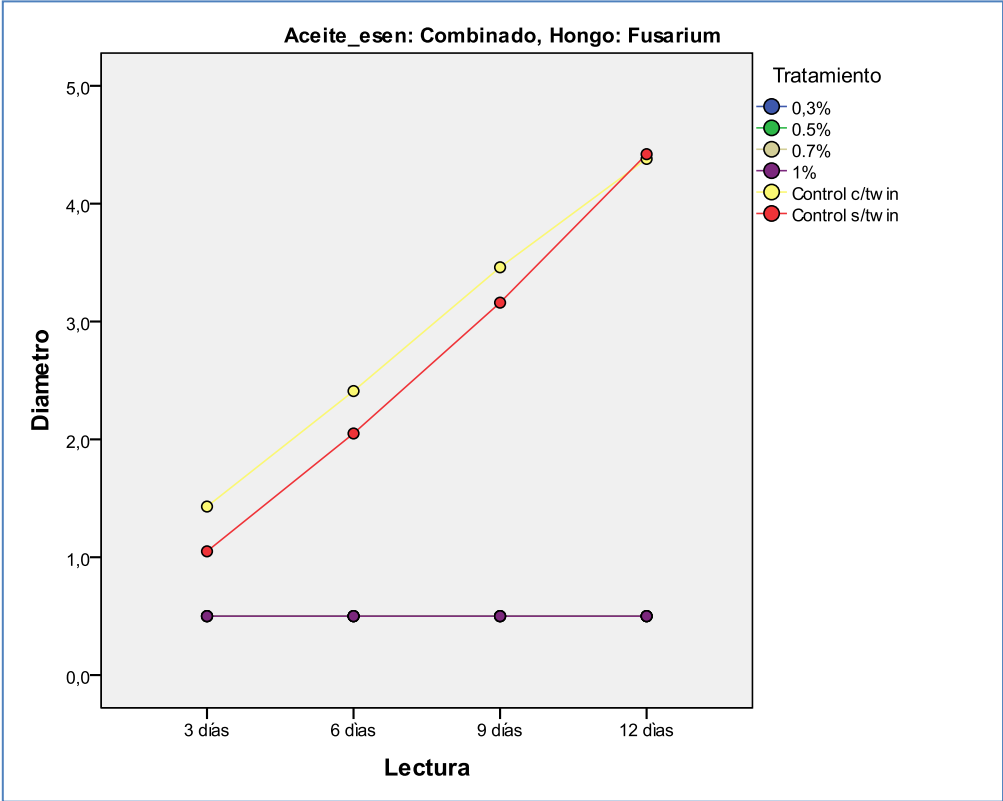


Gráfico N°11: Actividad antifúngica del tratamiento combinado de los aceites esenciales de pimienta negra, romero y orégano a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Penicillium sp.*

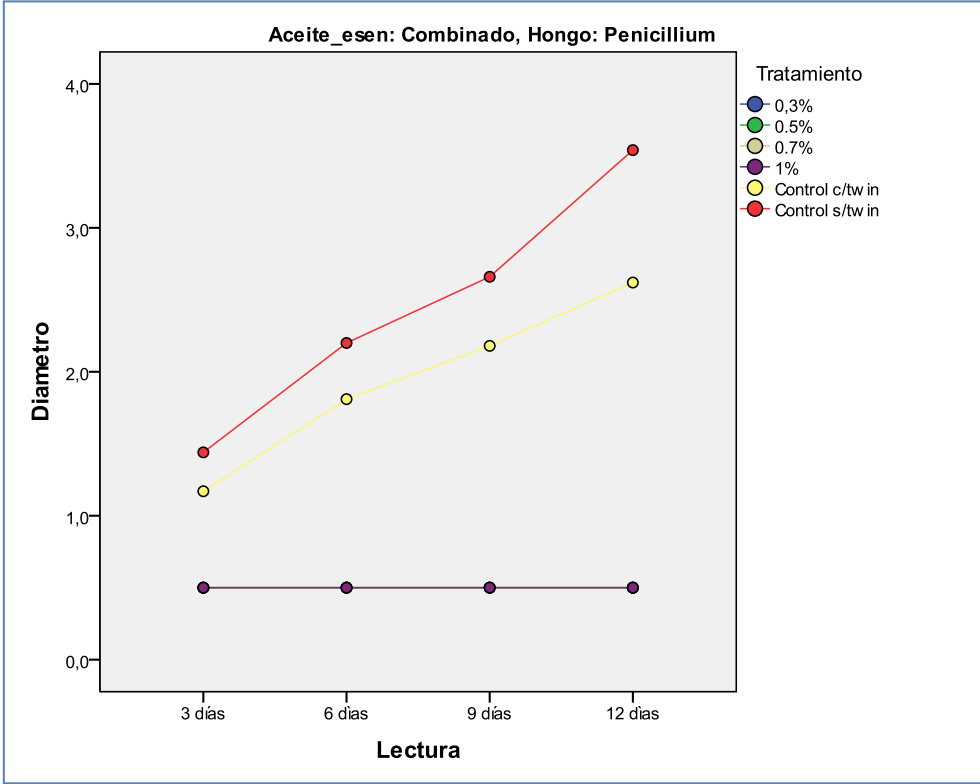
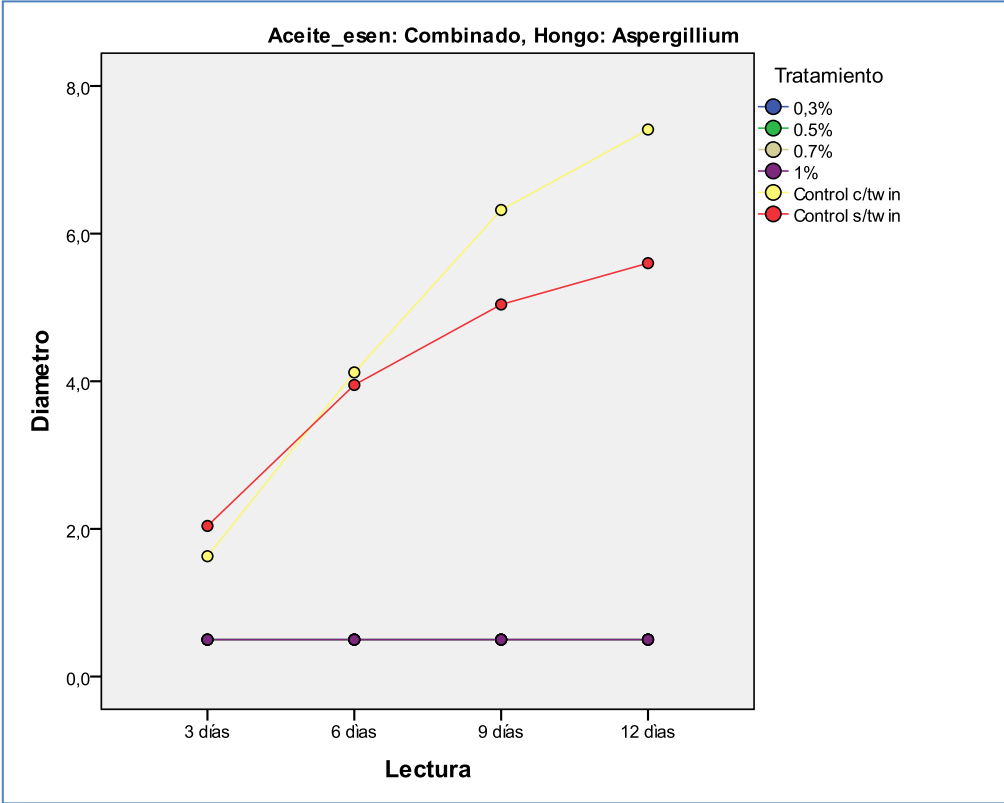


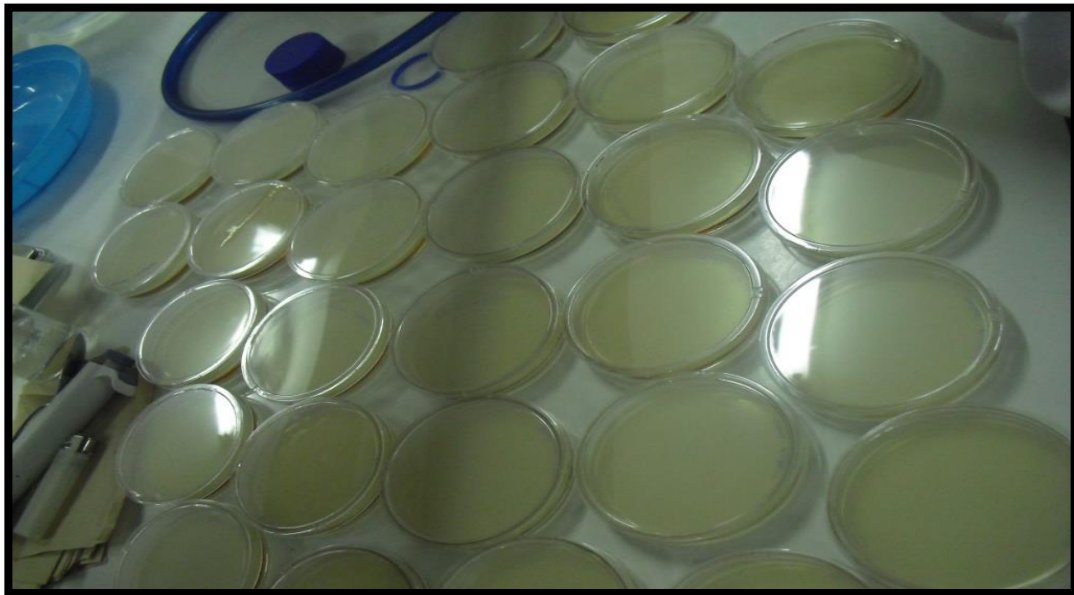
Gráfico N°12: Actividad antifúngica del tratamiento combinado de los aceites esenciales de pimienta negra, romero y orégano a concentraciones de 0.3, 0.5, 0.7 y 1% y dos controles sobre el hongo postcosecha en ají paprika: *Aspergillus flavus*



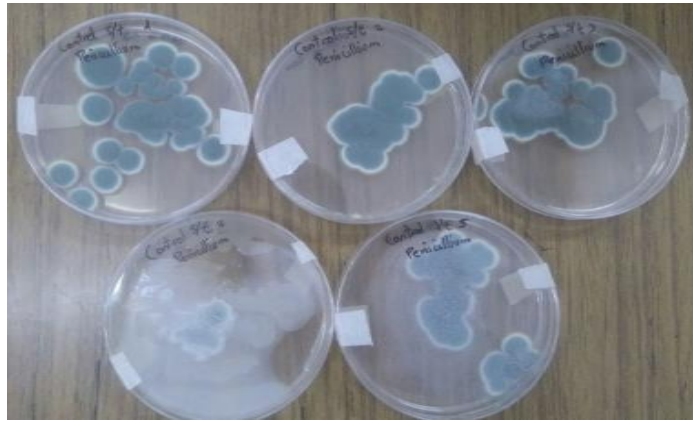
9.3. Fotografías:



FOTOGRAFÍA N° 01: Muestra biológica de *Capsicum annuum* L. “Aji paprika”



FOTOGRAFÍA N° 02: Tratamientos de agar Sabourand con aceites esenciales



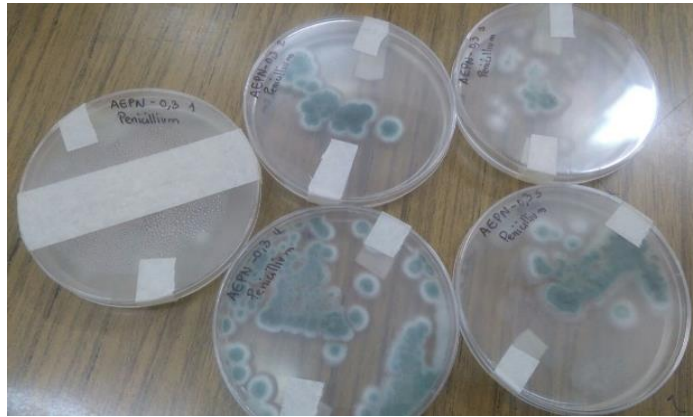
FOTOGRAFÍA N° 03: Crecimiento de *Penicillium sp.* en tratamiento control



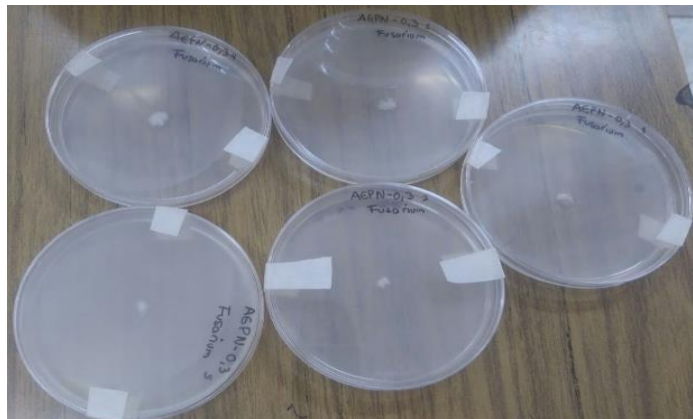
FOTOGRAFÍA N° 04: Crecimiento de *Fusarium solani* en tratamiento control



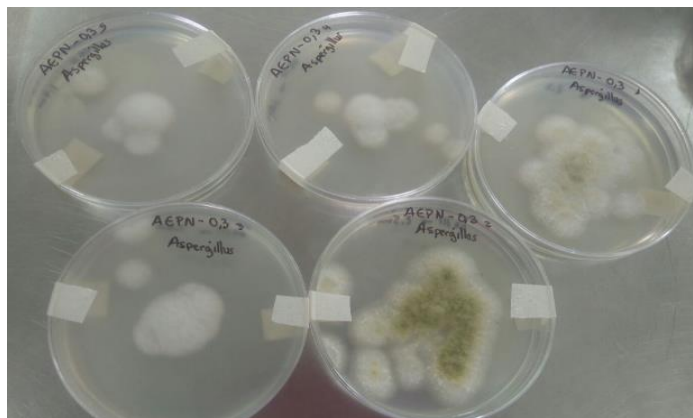
FOTOGRAFÍA N° 05: Crecimiento de *Aspergillus flavus* en tratamiento control



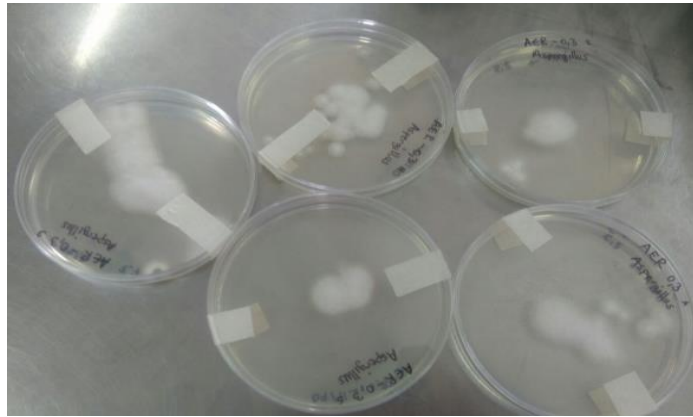
FOTOGRAFÍA N° 06: Crecimiento de hongos *Penicillium sp.* en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 0,3%



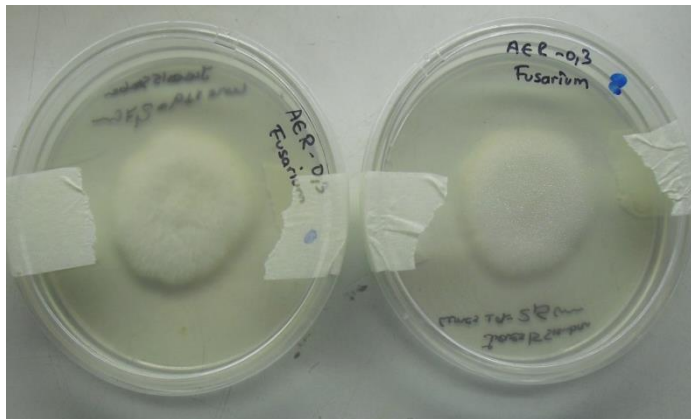
FOTOGRAFÍA N° 07: Crecimiento de hongos *Fusarium solani* en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 0,3%



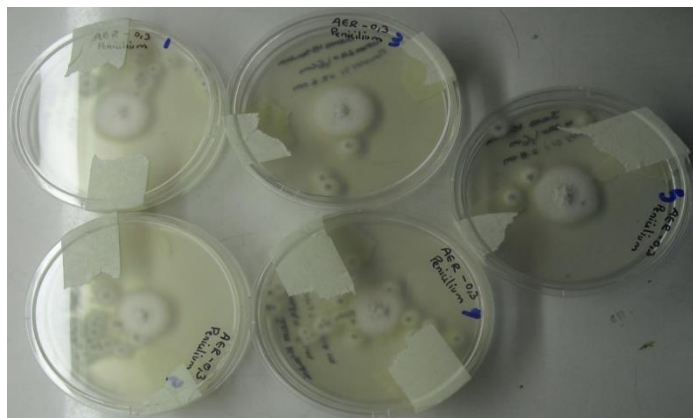
FOTOGRAFÍA N° 08: Crecimiento de hongos *Aspergillus flavus* en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 0,3%



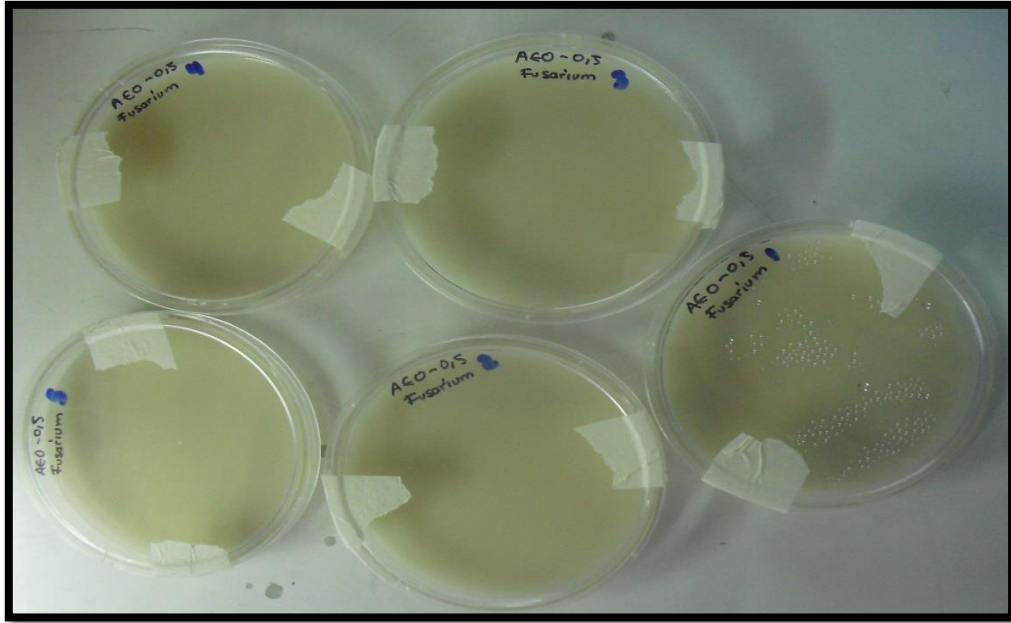
FOTOGRAFÍA N° 09: Crecimiento de hongos *Aspergillus flavus* en tratamiento con aceite esencial de romero al 0,3%



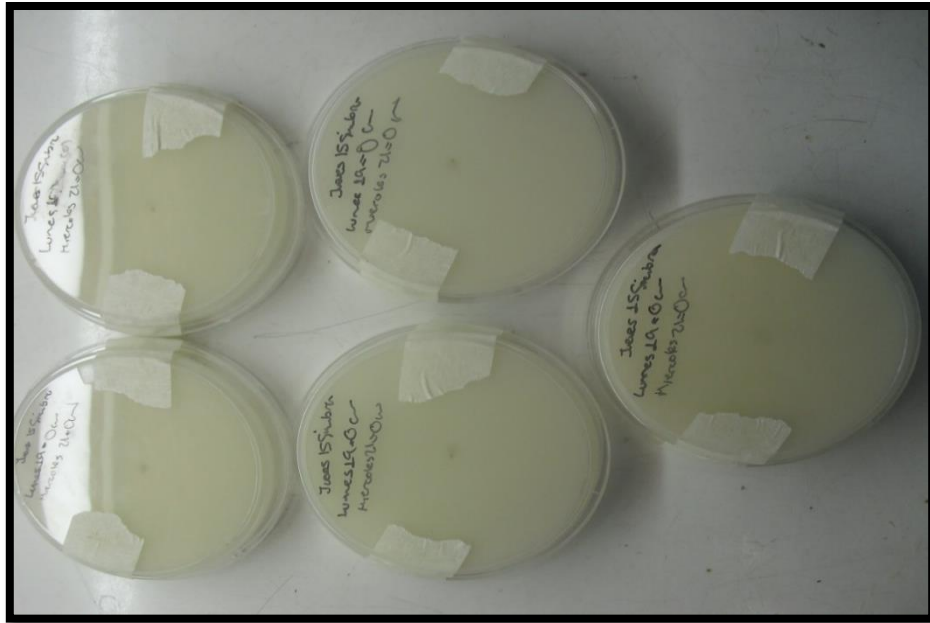
FOTOGRAFÍA N° 10: Crecimiento de hongos *Fusarium solani* en tratamiento con aceite esencial de romero al 0,3%



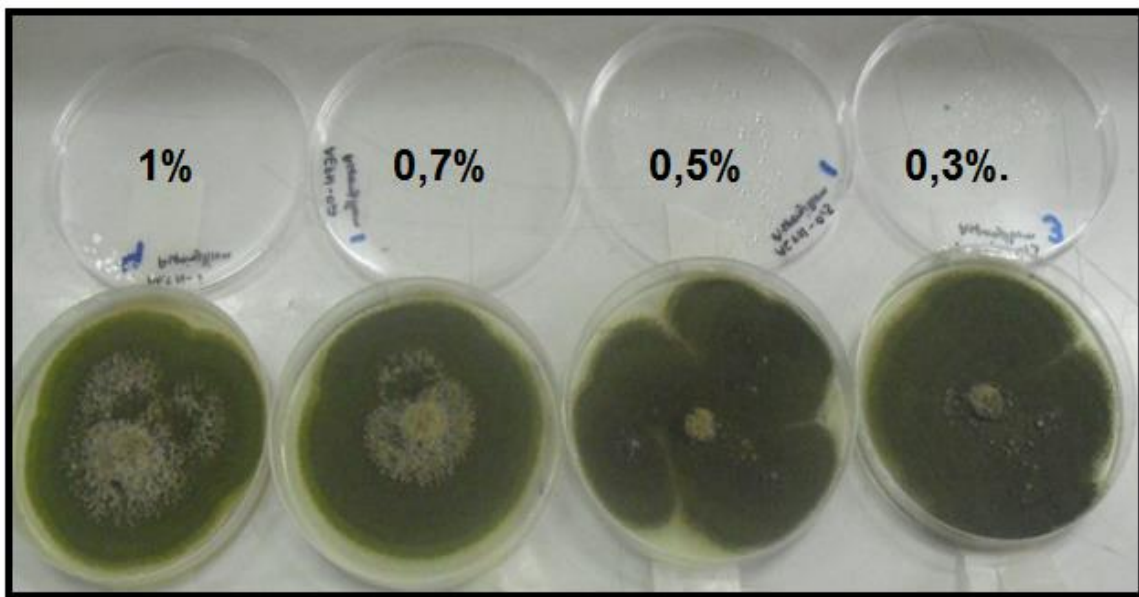
FOTOGRAFÍA N° 11: Crecimiento de hongos *Penicillium sp.* en tratamiento con aceite esencial de romero al 0,3%



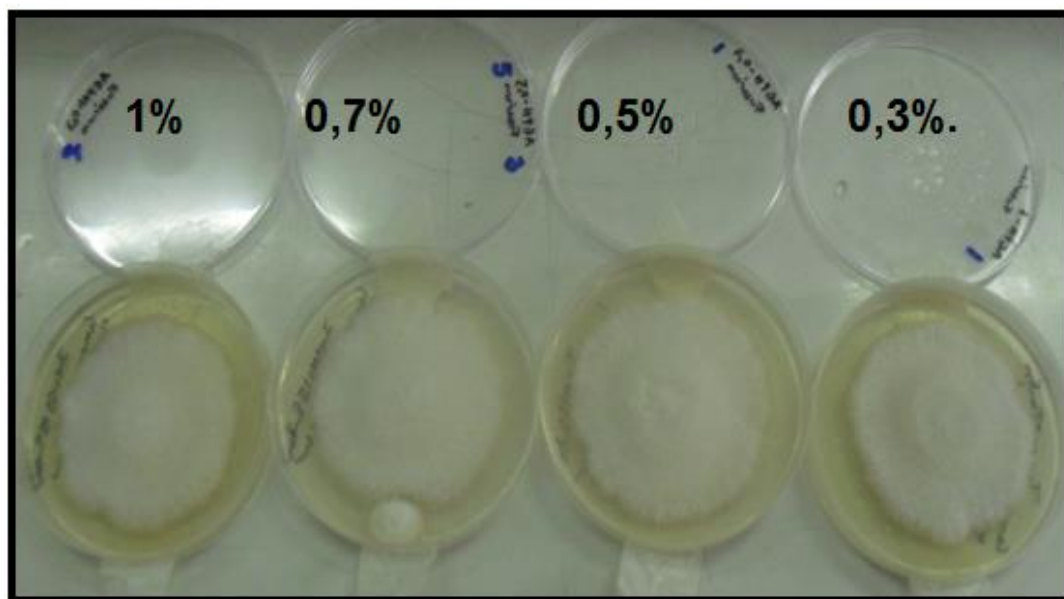
FOTOGRAFÍA N° 12: Crecimiento de hongos *Fusarium solani* en tratamiento con aceite esencial de orégano al 0,5%



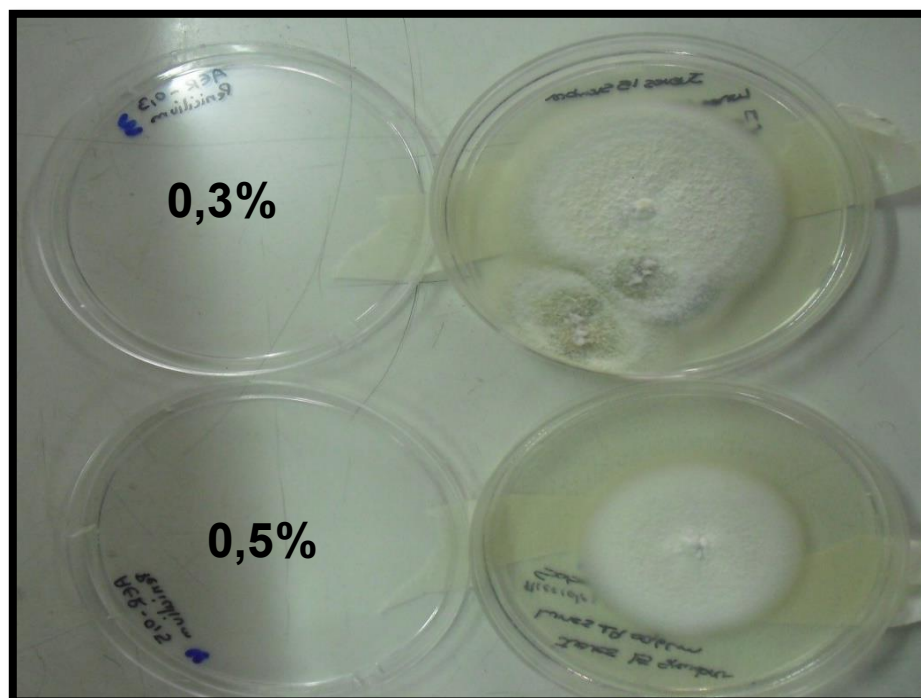
FOTOGRAFÍA N° 13: Crecimiento de hongos *Fusarium solani* en tratamiento con aceite esencial de tratamiento combinado al 0,5%



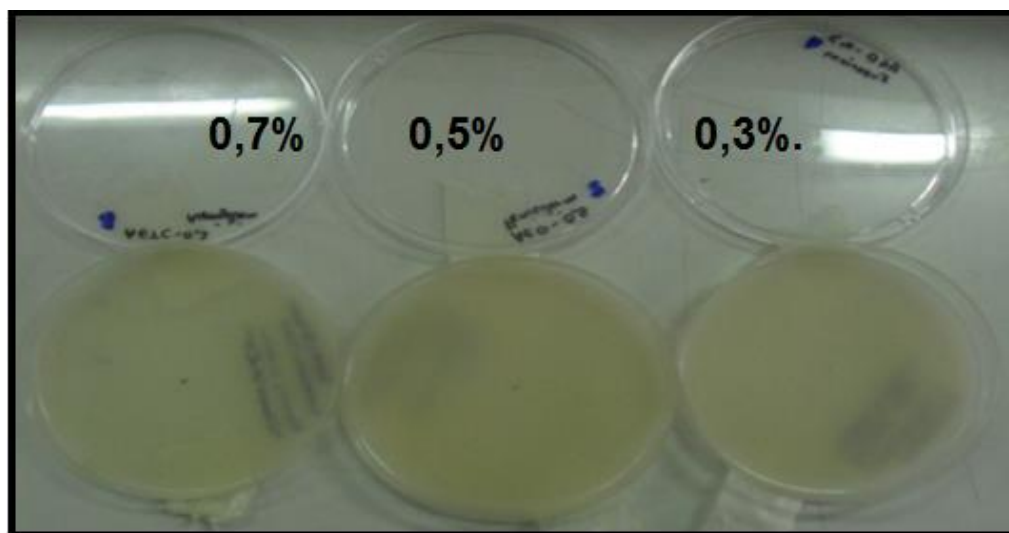
FOTOGRAFÍA N° 14: Crecimiento de hongos *Aspergillus flavus* en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 1%, 0,7%, 0,5% y 0,3%.



FOTOGRAFÍA N° 15: Crecimiento de hongos *Fusarium solani* en tratamiento con aceite esencial de pimienta negra al 1%, 0,7%, 0,5% y 0,3%.



FOTOGRAFÍA N° 16: Crecimiento de hongos *Penicillium sp.* en tratamiento con aceite esencial de romero al 0,5% y 0,3%.



FOTOGRAFÍA N° 17: Crecimiento de hongos *Penicillium sp.* en tratamiento con aceite esencial de orégano al 0,7%, 0,5% y 0,3%



FOTOGRAFÍA N° 18: Crecimiento de hongos sobre ají paprika en tratamiento en cámara húmeda con aceite esencial de orégano



FOTOGRAFÍA N° 19: Crecimiento de hongos sobre ají paprika en tratamiento en cámara húmeda con aceite esencial combinado



FOTOGRAFÍA N° 20: Crecimiento de hongos sobre ají paprika en tratamiento en cámara húmeda con aceite esencial de pimienta negra



FOTOGRAFÍA N° 21: Crecimiento de hongos sobre ají paprika en tratamiento en cámara húmeda con aceite esencial de romero



FOTOGRAFÍA N° 22: Preparación de tratamiento en cámara húmeda con aceites esenciales