

## Evaluación preliminar de la actividad fungicida de los aceites esenciales de eucalipto (*Eucalyptus tereticornis*, *Myrtaceae*) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis*, *Rutaceae*) sobre algunos hongos filamentosos

### Preliminary evaluation of fungicidal activity of essential oils of eucalyptus (*Eucalyptus tereticornis*, *Myrtaceae*) and orange peel (*Citrus sinensis*, *Rutaceae*) on some filamentous fungi

Alzate N., A.;<sup>1</sup> López V., K.;<sup>1</sup> Marín H., A.<sup>1</sup> y Murillo A., W.<sup>1</sup>

**Resumen.** Se evaluó la actividad antifúngica de los aceites esenciales de *Eucalyptus sp* (*Myrtaceae*) y cáscara de naranja, *Citrus sinensis* (*Rutaceae*) a diferentes concentraciones frente a los modelos biológicos: *Trichoderma harzianum*, *Absidia sp* y *Fusarium oxysporum*, hongo que es considerado como un patógeno importante de humanos y plantas. El aceite esencial de eucalipto inhibió completamente el crecimiento de este hongo a 3000 ppm, mostrando mayor potencial inhibitorio que el fungicida comercial Dithane empleado a 10000 ppm. Los hongos *Absidia sp* y *Trichoderma harzianum* resultaron ser más susceptibles a los componentes del aceite y su crecimiento fue inhibido por completo a 1000 ppm. El aceite esencial de cáscara de naranja fue menos efectivo y solamente mostró actividad fungicida sobre el hongo *Trichoderma harzianum* a 11000 ppm.

**Palabras clave:** Actividad fungicida, aceites esenciales, *Eucalyptus tereticornis*, cáscara de naranja, Hongos filamentosos.

**Abstract.** The antifungal activity of essential oils of *Eucalyptus sp* (*Myrtaceae*) and orange peel *Citrus sinensis* (*Rutaceae*) has been evaluated in different concentrations against biological models: *Trichoderma harzianum*, *Absidia sp* and *Fusarium oxysporum*, a fungus that is considered an important pathogen of humans and plants. Eucalyptus essential oil completely inhibited the growth of the fungus at 3000 ppm, showing higher inhibitory potential than the commercial fungicide Dithane at 1000 ppm. The fungi *Absidia sp* and *Trichoderma harzianum* proved to be more susceptible to the components of the oil and their growth was completely inhibited at 1000 ppm. The essential oil from orange peel was less effective and showed antifungal activity only on *Trichoderma harzianum* at 11000 ppm.

I. Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares (GIEM) Universidad de Antioquia, Box 1226, Medellín.

**Key words:** Fungicidal activity, essential oils, *Eucalyptus tereticornis*, orange peel, Filamentous fungi.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones invasivas por hongos siguen siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad en pacientes que reciben trasplantes y en aquellos que presentan inmunocompromiso (Erjavec y Verweij, 2002). Este aspecto se explica en gran parte por el desarrollo de mecanismos de resistencia primaria y secundaria a los antimicóticos entre algunas especies de hongos, seguido de la problemática en la administración inadecuada de medicamentos fungistáticos que al prolongar el tratamiento por largos periodos de tiempo permiten la selección de clones resistentes (Schelz, 2006; Mesa *et al.*, 2004).

El número de antifúngicos disponibles para tratar las micosis invasoras por hongos filamentosos es muy escaso. Entre los más usados se encuentran los de tipo polieno como las nistatinas los de tipo azol y triazol como el fluconazol y algunos de menor uso como las sordarinas (Odds *et al.*, 2003). La eficacia de éstos para el tratamiento de las micosis sistémicas graves es limitada, lo cual puede explicarse por la falta de técnicas que diagnostiquen la infección de forma precoz, por la toxicidad y las limitaciones que presenta la dosificación de algunos fármacos como la anfotericina B, las escasas alternativas terapéuticas, y la aparición de cepas con resistencia secundaria a los antifúngicos o de especies con resistencia intrínseca (Alvarado *et al.*, 2002; Quindos y Eraso 2008).

El descubrimiento de nuevos antifúngicos se basa en la exploración diferentes fuentes de compuestos bioactivos, entre las que se encuentran las especies de plantas conocidas hasta el momento que oscilan entre 250.000 y 500.000 (Vepoorte, 1998; Cowann, 1999). Las plantas sintetizan metabolitos secundarios como las fitoanticipinas y las fitoalexinas, que utilizan para defenderse de la infección por agentes fitopatógenos, entre ellos los hongos (Farnsworth *et al.*, 1985; Taylor, 1998; Osbourn, 1999). Otras moléculas producidas por las plantas son las fitodefensinas, de naturaleza peptídica y ricas en cisteína, con capacidad de inhibir el crecimiento de los hongos al producir en ellos cambios morfológicos y daño en algunas estructuras celulares (De Lucca, 1999; Selitrennikoff, 2001). Por esta razón, dichas moléculas pueden ser candidatas para estudios *in vitro* contra agentes micóticos implicados en infecciones humanas y también sobre hongos fitopatógenos que atacan a las plantas (Taylor, 1998; Mesa *et al.*, 2004; Agrios, 2005)

Dentro de los metabolitos secundarios con actividad fungicida se encuentran los provenientes de la fracción líquida volátil que contiene las sustancias responsables del aroma de las plantas (Harbone, 1998) o aceites esenciales. Generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes de bajo peso molecular como compuestos alifáticos simples, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos, que hacen parte de los monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos (Mesa *et al.*, 2004; Schelz, 2006)

Los aceites esenciales son conocidos por ejercer actividad antimicrobiana (Chaibi *et al.*, 1997; Jaya y Dubey, 2001; Murillo y Linares, 2002; Ramezani *et al.*, 2002; Mesa *et al.*, 2004; Sacchetti *et al.*, 2005; Senhaji *et al.*, 2005; Schelz *et al.*, 2006; Inouye *et al.*, 2006; Barreto *et al.*, 2006). Aunque el mecanismo por el cual actúan no está totalmente entendido, puede involucrarse en éste la destrucción de la membrana microbiana por los constituyentes lipofílicos que poseen (Schelz *et al.*, 2006; Keeler, 1991), y estudios recientes reportan otros efectos como cambios en la morfología del hongo que incluyen daños sobre estructuras como conidias, macroconidias e hifas, así como la disminución en la producción de micotoxinas (Park *et al.*, 2009).

De las plantas del género *Eucalyptus* se obtienen varios aceites esenciales, extractos e infusiones con actividad antimicótica, compuestos principalmente por el componente activo 1,8-cineol que se encuentra en un rango de concentración entre 54% y 95% (Mellado *et al.*, 1998). Muchas especies de este género, entre las que se incluyen *E. camandulensis*, *E. citriodora*, *E. globulus*, *E. tereticornis*, *E. robusta*, entre otras, han mostrado efectos contra una amplia variedad de hongos filamentosos de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phyphthora* y *Botrytis* conocidos como fitopatógenos en diferentes cultivos de importancia comercial (Ramezani *et al.*, 2002; Alitonou *et al.*, 2004; Batish *et al.*, 2008). Además, el aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*) especialmente el que se obtiene de la cáscara, presenta un alto contenido de monoterpenos representados en gran mayoría por el limoneno, y otros monoterpenos oxigenados como linalol y cineol que se encuentran en menor proporción. La mezcla de componentes de este aceite esencial ha demostrado actividad inhibitoria de crecimiento en diferentes cepas de hongos entre los que se encuentran algunas especies del género *Aspergillus* y *Penicillium* como *A. niger*, *A. flavus*, *P. verrucosum*, *P. chrysogenum*, *P. digitatum* y *P. itacum*, hongos que se encuentran asociados con el deterioro de alimentos y productos de poscosecha (Caccioni *et al.*, 1998; Ruiz *et al.*, 2002; Martos *et al.*, 2006)

En publicaciones más recientes sobre aceites esenciales con potencial terapéutico en

el tratamiento de micosis humanas se encuentran estudios en los cuales se ha reportado la actividad antidermatofítica del aceite esencial y otras fracciones orgánicas extraídas de plantas como *Magnolia liliflora*, evaluada contra varias cepas de hongos tales como *Microsporus canis*, *Trichophyton rubrum* y *T. metagrophytes*, hongos asociados con infecciones de la piel en humanos (Bajpai *et al.*, 2009). En este mismo contexto Warnke y otros (2009) discuten la eficacia de los aceites esenciales de eucaliptus, lavanda, canela, menta y clavo contra microorganismos resistentes a los antibióticos de ambientes hospitalarios dentro de los que se contemplan bacterias como *S. aureus* y algunas levaduras del género *Candida*.

Por lo anterior, este trabajo plantea la posibilidad de buscar en los aceites esenciales alternativas terapéuticas eficientes, que brinden más y mejores opciones para contrarrestar el carácter patógeno en humanos y fitopatógeno de hongos como *fusarium oxysporum*, parásito de más de 100 especies de plantas entre gimnospermas y angiospermas (Garces *et al.*, 2001), relacionado también con infecciones de piel, meninges, sangre, cerebro, esófago, ojos y artritis en humanos, especialmente si presentan inmunocompromiso causado por VIH (Godoy *et al.*, 2004; Fonseca *et al.*, 2007). Por su parte algunas especies del género *Absidia* y *Trichoderma*, hongos que son habitantes del suelo, se encuentran relacionadas con la contaminación de ambientes interiores y productos almacenados (Conway, 1983; Fakhrunnisa y Ghaffar, 2006) se usarán en este trabajo para tener una idea más amplia del espectro de actividad fungicida de los aceites esenciales de cáscara de naranja y *Eucalyptus tereticornis*.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal y extracción de aceites esenciales

Hojas de un árbol de *Eucalyptus tereticornis* ubicado en la Universidad de Antioquia y previamente clasificado por el herbario de la misma institución, y cáscaras de naranja recientemente peladas fueron recolectadas y sometidas a extracción de aceites esenciales por el método de hidrodestilación. El aceite obtenido en cada caso fue secado sobre sulfato de sodio anhidro y almacenado en un recipiente ámbar a temperatura ambiente para su posterior uso.

### 2.2 Reactivos y medios de cultivo

Fungicida Dithane FMB 1% utilizado como control positivo.  
Medio de cultivo: Agar papa dextrosa (PDA).

## 2.3 Microorganismos modelo de ensayo

Se utilizaron cepas de los hongos *Fusarium oxysporum* f, *Absidia* sp y *Trichoderma* sp. proporcionadas por el cepario del laboratorio de microbiología del grupo GIEM de la Universidad de Antioquia.

## 3. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

### 3.1 Método de difusión en agar

Se prepararon los medios de cultivo utilizando papa dextrosa agar (PDA) incorporando en un volumen de 13 mL de agar cantidades determinadas de aceite esencial para obtener concentraciones finales tomadas como referencia de ensayos anteriores. Las concentraciones fueron de 10 a 4000 ppm para el aceite esencial de eucalipto y de 100 a 12000 ppm en el caso del aceite de cáscara de naranja. La mezcla se homogenizó y se sirvió en cajas de petri estériles, y después de su solidificación los medios de cultivo se inocularon con una rodaja de 0,5 cm de diámetro del micelio del hongo respectivo. Como blanco se usó medio de cultivo sin incorporación de aceites esenciales, y como control positivo se utilizó el fungicida comercial Dithane FMB a la concentración recomendada (1% w/v), la cual es equivalente a 10000 ppm.

### 3.2 Método de análisis

#### 3.2.1 Cálculo del porcentaje de inhibición

Luego de observar el crecimiento de los modelos biológicos sometidos a las condiciones establecidas, se obtuvieron diámetros de crecimiento que permiten obtener los porcentajes de inhibición.

$\% \text{ inhibición} = [\text{diámetro control (cm)} - \text{diámetro extracto (cm)}] / \text{Diámetro control (cm)} \times 100.$

#### 3.2.2 Evaluación de la cinética de crecimiento

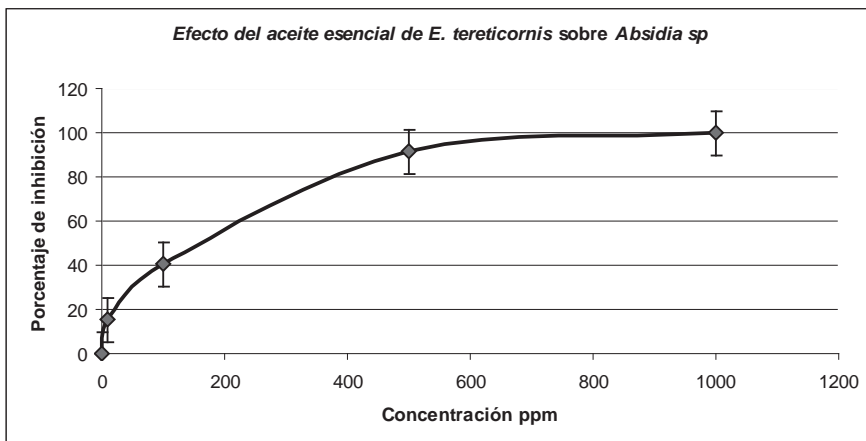
Se llevó control de la cinética de crecimiento tomando diariamente medidas del diámetro de crecimiento del micelio en cada tratamiento hasta que los hongos en el blanco abarcaron el diámetro completo de la caja de petri (9 cm), y se realizaron tres réplicas por cada tratamiento.

#### 4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA 50 (CI<sub>50</sub>) Y MININA INHIBITORIA (CMI) MEDIANTE MODELOS DE REGRESIÓN SIMPLE

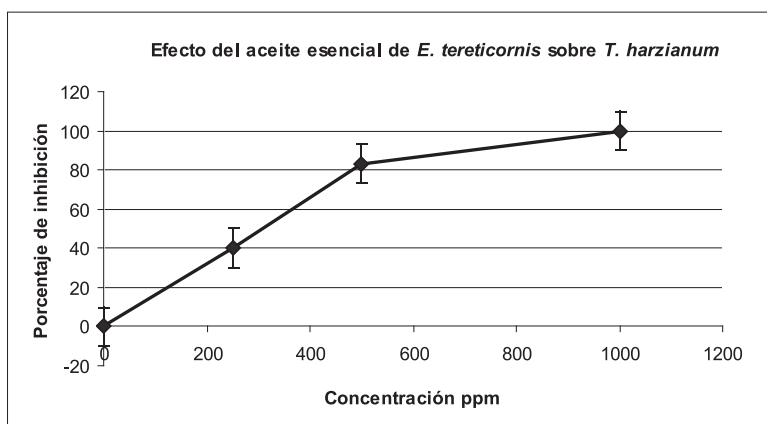
Las concentraciones (CI<sub>50</sub>) y (CMI) se calcularon a partir de los valores obtenidos para los porcentajes de inhibición de las concentraciones evaluadas para cada uno de los modelos biológicos, buscando el mejor modelo de ajuste en cada uno de los casos. También se realizaron análisis de varianza ANOVA entre las medias de los porcentajes de inhibición de cada uno de los tratamientos usando el programa *Statgraphic* versión XVI.

#### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

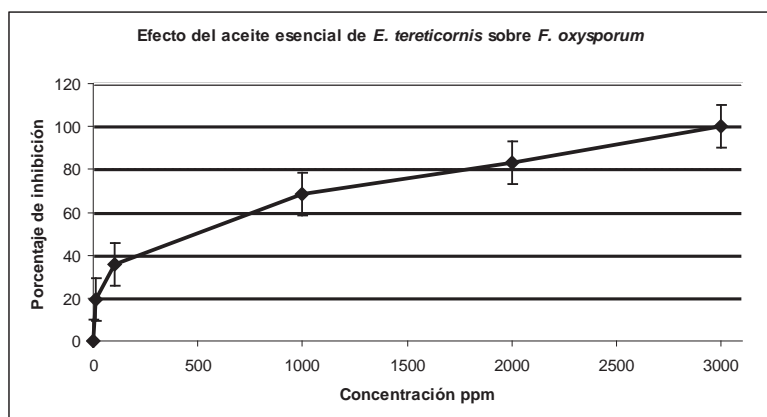
La actividad ejercida por los componentes del aceite esencial de eucalipto sobre las cepas de hongos evaluados muestra en todos los casos un efecto dependiente de la concentración de aceite. Los hongos presentaron un diferente nivel de susceptibilidad frente al aceite esencial de eucalipto. El más afectado fue el hongo *T. harzianum*, inhibiéndose por completo su crecimiento a una concentración de 1000 ppm, tal como se aprecia en el gráfico 1. El hongo *Absidia sp* también fue inhibido completamente a esta misma concentración de aceite esencial, mientras que *F. oxysporum*, el hongo menos afectado por los componentes de este aceite, fue inhibido a 3000 ppm. El efecto causado por el aceite esencial de *E. tereticornis* se aprecia con más detalle en los gráficos 2 y 3 respectivamente.



**Gráfico 1.** Efecto del aceite esencial de *E. tereticornis* a diferentes concentraciones sobre el crecimiento del hongo *T. Harzianum*.



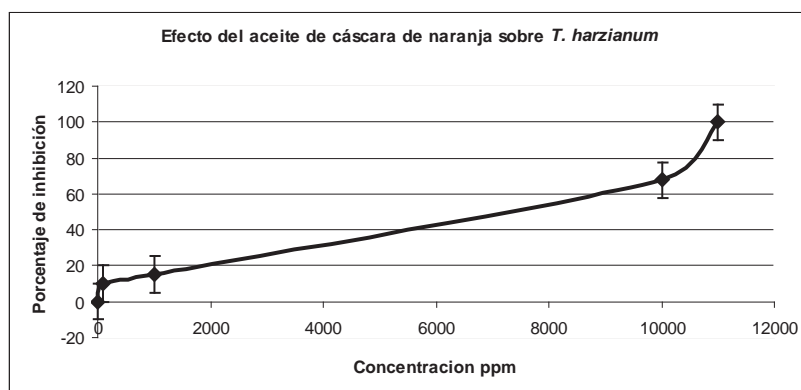
**Gráfico 2.** Efecto del aceite esencial de *E. tereticornis* a diferentes concentraciones sobre el crecimiento del hongo *Absidia sp.*



**Gráfico 3.** Efecto del aceite esencial de *E. tereticornis* a diferentes concentraciones sobre el crecimiento del hongo *F. oxysporum*.

El análisis de varianza realizado mostró que existen diferencias estadísticamente significativas al 5% entre las medias de los porcentajes de inhibición de los tratamientos para todos los ensayos realizados con cada una de las cepas sometidas al aceite esencial de eucalipto respecto al control. Lo anterior muestra que en general los aceites esenciales que se extraen de plantas del género *Eucalyptus* resultan ser buenos candidatos para la búsqueda de componentes activos contra hongos, como se ha evidenciado en otros estudios en los que se documenta su amplio espectro de actividad biológica (Bakkali *et al.*, 2008).

La evaluación de la actividad fungicida del aceite esencial extraído de la cáscara de naranja sobre las cepas de hongos antes mencionadas fue mucho menor si se la compara con la mostrada por el aceite de eucalipto, ya que los hongos *F. oxysporum* y *Absidia sp* no fueron afectados por los componentes de ese aceite esencial en ninguna de las concentraciones evaluadas (de 100 a 12000 ppm). *T. harzianum* fue inhibido empleando altas concentraciones de aceite esencial (11000 y 12000 ppm), mientras que las demás concentraciones evaluadas ejercieron un efecto fugistático sobre este hongo (gráfico 4). Como se puede apreciar, estas concentraciones resultan bastante altas, incluso superando el valor máximo recomendado para productos comerciales con actividad fungicida, las cuales se encuentran alrededor del 1%. Estos resultados diferenciales en la actividad fungicida de aceite de naranja indican que existe una estrecha relación entre la composición del aceite esencial empleado y la actividad biológica, ya que la composición de volátiles puede variar afectando el grado de actividad observado. Incluso algunos aceites esenciales con actividad fungicida conocida pueden resultar ineficaces cuando son evaluados sobre otras cepas de hongos o bajo condiciones diferentes (Aldred *et al.*, 2008). Sin embargo el aceite esencial de cáscara de naranja ha demostrado, en estudios anteriores, actividad fungicida sobre una modesta variedad de hongos fitopatógenos (Caccioni *et al.*, 1998).



**Gráfico 4.** Efecto del aceite esencial de cáscara de naranja a diferentes concentraciones sobre el crecimiento del hongo *T. harzianum*.

El fungicida comercial Dithane, considerado como un fungicida de amplio espectro y cuyo ingrediente activo es el mancozeb, se usó en este estudio como control positivo a la concentración recomendada por el fabricante (1% w/v), concentración que es equivalente a 10000 ppm. Este fungicida mostró actividad fungistática sobre los



hongos *T. harzianum*, *F. oxysporum* y *Absidia sp*, con porcentajes de inhibición de 33.33, 44.44 y 50% respectivamente. En todos los casos la actividad mostrada fue inferior a la manifestada por el aceite de eucalipto a concentraciones mucho menores, ya que si tomamos como referencia una de las concentraciones en los ensayos realizados, podemos ver cómo a 1000 ppm, concentración que es 10 veces inferior a la usada con el Dithane, el aceite esencial de eucalipto mostró en todos los hongos porcentajes de inhibición mayores a los obtenidos con ese producto comercial, y en caso de dos de los hongos (*T. harzianum* y *Absidia sp*) esta concentración fue suficiente para inhibir por completo el desarrollo del micelio.

Mediante los modelos de regresión simple ajustados y obtenidos con los porcentajes de inhibición, tomados en el punto final de la cinética de crecimiento para cada uno de los hongos, se calcularon la  $CI_{50}$  y CMI (éstas se resumen en la tabla 1). En esta tabla también se pueden apreciar los valores obtenidos para el hongo *T. harzianum* tratado con aceite de naranja.

**Tabla 1.** Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) e inhibitorias 50 ( $CI_{50}$ ) calculadas a partir de los modelos de regresión simple para la actividad fungicida de los aceites esenciales de eucalipto y cáscara de naranja.

Hongo	Modelo de regresión	p- valor del modelo	R2	CI50	CMI
Foxysporum	%Inhibición = $\sqrt{608,619 + 3,21156 * \text{Concentración}}$	0,0000	0,991474	588,929	2924,2
T. harzianum	%Inhibición = $-1,80203 + 3,30838 * \sqrt{\text{Concentración}}$	0,0199	0,980144	184,986	825,09
Absidia sp	%Inhibición = $5,0337 + 3,30611 * \sqrt{\text{Concentración}}$	0,0028	0,982407	245,167	946,85
**T. harzianum	Inhibición = $7,58793 + 6,98348E-7 * \text{Concentración}^2$	0,0029	0,982	7793,07	11503,5

\*\*T. harzianum tratado con aceite esencial de cáscara de naranja

En el caso del aceite de eucalipto las concentraciones CMI calculadas para cada uno de los hongos resultan ser bastante moderadas, y se encuentran dentro del rango reportado por otros investigadores en el marco de estudios sobre la actividad fungicida de aceites esenciales de eucalipto (Barreto *et al.*, 2006; Bakkai *et al.*, 2008; Batish *et al.*, 2008). Estos valores generalmente se encuentran entre 10 ppm y 3000 ppm, pero incluso algunos consideran concentraciones superiores que llegan al 1%.

Los valores de la tasa de crecimiento registrados por los hongos en los medios de cultivo blanco fueron los que se relacionan a continuación. Para *T. Harzianum*, 1,603 cm/día; *F. oxysporum* creció a razón de 1,145 cm/día, mientras que *Absidia sp* lo hizo a 1,408 cm/día. Estos datos indican que los hongos se pueden usar como modelos biológicos para evaluaciones de compuestos o extractos con actividad fungicida en un periodo de aproximadamente una semana, tiempo en el cual los hongos sin tratamiento han colonizado por completo el medio de cultivo. Lo anterior podría facilitar la toma de datos y disminuir el riesgo de contaminación generada por la manipulación de hongos que crecen a una tasa demasiado baja.

## 6. CONCLUSIONES

Los aceites esenciales representan una buena alternativa para la búsqueda de nuevas posibilidades en el control de hongos filamentosos en contextos agrícolas, y en el posible tratamiento de micosis superficiales en humanos. El aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis* mostró tener un buen espectro de actividad fungicida a concentraciones moderadas sobre los hongos filamentosos evaluados en este trabajo. Sin embargo es necesario realizar ensayos sobre otras cepas de interés de tal forma que se pueda tener una idea más amplia de la actividad fungicida de este aceite, y se pueda posteriormente comenzar a validar su uso seguro para diferentes aplicaciones médicas o agrícolas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G.N. (2005). Fitopatología, Enfermedades de las plantas causadas por hongos, Limusa (eds) Segunda edición, México DF, 273-279; 425-439.
- Fuller, D.A. C.V. Magan. (2008). Environmental factors affect efficacy of some essential oils and resveratrol to control growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus westerdijkiae* on wheat grain *Journal of Stored Products Research* 44: 341– 346.
- Alitonou, G. A.; Wotto D.V; Ahoussi, E.; Dangou, J.; Sohounhloué, E.; Dominique, C.K. (2004). Composition Chimique, Propriétés Antimicrobiennes et Activités sur les Tiques de l'huile Essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm *Chimie* 7: 1051–1055.
- Alvarado, D.; Diaz, J.M.; Silva, V. (2002). Identificación y susceptibilidad antifúngica de *Candida spp* aisladas de micosis invasora. Influencia del porcentaje de inhibición del crecimiento para la determinación de CIM. *Rev. Méd. Chile*.130 (4).
- Bajpai K.V, Jung in Yoon, Kang C.S. (2009). Antioxidant and antidermatophytic activities of essential oil and extracts of *Magnolia liliflora* Desr. *Food and Chemical Toxicology* 47, 2606–2612.

- Bakkali, F. A.; Averbeck, D.; Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review *Food and Chemical Toxicology* 46, 446–475.
- Barreto, A.G.; Velázquez, P. B.; Peña, M.Y.; Rodríguez T.H. (2006). Evaluación in vitro de extractos de *Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucalyptus saligna* Sm como posibles antisépticos mamarios, *Rev. prod. anim.* 18 (2): 135-140.
- Batish, R.D.; Singh, P.H.; Kohli, K.R.; Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oils as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management.* 256, 2166-2174.
- Caccioni R.L.; Guizzardi, M.; Biondi, D.M.; Renda, A.; Giuseppe, R. (1998). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum*. And *Penicillium italicum* *International Journal of Food Microbiology* 43, 73–79.
- Chaibi, A. B.; Boucetta, B. (1997). Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils, *food microbiology*, *Rev.* 14, 161-174.
- Conway, W.S. (1983). *Trichoderma harzianum*: A possible cause of apple decay in storage *Plant Disease* 67, 916-917.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents, *Clin microbial rev*; (12): 564-582.
- De Lucca, A.; Walsh, T. (1999). Antifungal peptides: novel therapeutic compounds against emerging pathogens, *Antimicrobial agents chemother*; 43, 1-11.
- Erjavec, Z.; Verweij, P.E. (2002). Recent progress in the diagnosis of fungal infections in the immunocompromised host. *Drug Resistance Updates* 5, 3–10.
- Fakhrunnisa, M.H.; Hashmi, Ghaffar, A. (2006). Seed-borne Mycoflora of Wheat, Sorghum and Barley. *Pak. J. Bot.*, 38(1):185-192.
- Farnsworth, N.R.; Akerele, O.; Bingel, A.S.; Soejarto, D.D.; GUO, Z. (1985). Medicinal plant in therapy, *Bull world health org* 63, 965-981.
- Fonseca, N.I.; Pereira, N.R.; De Queiroz, L.A.; Correia, M.O.; Massa, L.D. (2007). *Fusarium lateritium* (nees) as an agent of fungemia in a patient infected with the human immunodeficiency virus (HIV). *Brazilian Journal of Microbiology* 38, 285-286.
- Garcés, E.; Orozco, M.; Bautista, G.; Valencia, H. (2001). *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer. *Acta Biológica Colombiana.* 6,(1): 7-25.
- Godoy, P.; Cano, J.; Gene, J.; Guarro, J. (2004). Genotyping of 44 Isolates of *Fusarium solani*, the Main Agent of Fungal Keratitis in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology.* 42, 4494-4497 No 10.

- Hansel, R.; Keller, K.; Rimpler, H.; Schneider, G.E. (1994). Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Drogen (A-D), 1209 pp., 1993 (E-O), 970 pp., (P-Z), 1196 pp. Springer-Verlag, Berlin.
- Harbone, J.B. (1998). Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis, essential oils, third edition, Chapman y hall (eds), London.
- Inouye, S.; Uchida, K.; ABE, S. (2006). Volatile composition and vapour activity against *Trichophyton mentagrophytes* of 36 aromatic herbs cultivated in Chichibu district in Japan, The International Journal of Aromatherapy 16, 159–168.
- Jaya, V.; Dubey, N.K. (2001). Efficacy of essential oils of *Caesulia axillaris* and *Mentha arvensis* against some storage pests causing biodeterioration of food commodities, International Journal of Food Microbiology 68, 207–210.
- Keeler, R.F. and Tu, A.T. (1991). eds. Toxicology of Plant and Fungal Compounds. (Handbook of Natural Toxins Vol. 6) Marcel Dekker, Inc. NY pp. 665.
- Martos, V.M.; Ruiz, N.Y.; Fernandez, L.J.; Perez, A.J. (2006). Antifungal activity of lemon (Citrus lemon L.), mandarin (Citrus reticulata L.), grapefruit (Citrus paradisi L.) and orange (Citrus sinensis L.) essential oils. Food Control 19, 1130–1138.
- Mellado, E.; Cuenca, E.M.; Rodríguez, J. (1998) Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos, Unidad de Micología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.
- Mesa, A.C.; Bueno, J.G.; Betancur, L.A. (2004). Productos naturales con actividad antimicótica, Revista española de quimioterapia. 17, 325-331.
- Murillo, E.; Villa, A.; Linares, A. (2002). Composición química, actividad insecticida y fungicida de *Ocimum micranthum*, Revista colombiana de entomología. 28(1):109-113.
- Odds, F.C.; Brown, J.P.; Gow, A.R. (2003). Antifungal agents: mechanisms of action TRENDS in Microbiology Vol.11 No.6.
- Osborn, A.E. (1999). phytoprotectants and fungal pathogens: A commentary. fungal genet biol; 26: 163-168.
- Park, M.J.; Gwaka, K.S.; Yang, K.W.; Kim, E.B.; Jeung, J.W.; Chang, I.G.; Choi, A. (2009). Effect of citral, eugenol, nerolidol and  $\alpha$ -terpineol on the ultrastructural changes of *Trichophyton mentagrophytes*. Fitoterapia 80, 290–296.
- Quindos, G.; Eraso, E. (2008) Actividad Antifúngica in Vitro de la anidulafungina. Rev Iberoam Micol. 25, 83-91.
- Ramezani, Singh, Batish, Kohli. (2002). Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*, Fitoterapia 73, 261-262.
- Ruiz, N.Y.; Martos, M.V.; Fernandez, L.J.; Perez, A.J. (2002). Composición química y capa-

cidad antifúngica de los aceites esenciales de mandarina (*Citrus reticulata* L) y pomelo (*Citrus Paradisi* L). Alimentación equipos y tecnología.

Sacchetti, G.; Maietti, S.; Muzzoli, M.; Scaglianti, M.; Manfredini, S.; Radice, M.; Bruni R. (2005) Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods, food chemistry. 91, 621-632.


Schelz, Z.; Molnar, J.; Hohmann, J. (2006) Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils, fitoterapia. 77, 279-285.

Selitreffnikoff, C.P. (2001). Antifungal proteins, Appl environ microbiol 67, 2883-2894.

Senhaji, O.; Faïd, M.; Elyachioui, M.; Dehhaoui, M. (2005) Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle, Journal de micologie médicale. 15, 220-229.

Taylor, C.B. (1998). Defense responses in plants and animals-more of the same, Plant cell; (10): 873-876.

Vepoorte, R. (1998). Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development, Drug discov today. 3, 232-238.

Warnke H.K.; Becker, T.S.; Podschun, R.; Sivananthan, H.; Springer, N.; Russo, P.; Wilffang, A.; Fickenscher, H.; Sherry, E. (2009). The battle against multi-resistant strains: Renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery 37, 392-397. 

Referencia	Recepción	Aprobación
Alzate N., A., López V., K., Marín H., A. y Murillo A., W. Evaluación preliminar de la actividad fungicida de los aceites esenciales de eucalipto ( <i>Eucalyptus tereticornis</i> , myrtaceae) y cáscara de naranja ( <i>Citrus sinensis</i> , rutaceae) sobre algunos hongos filamentosos. Revista <i>Tumbaga</i> (2009).	Día/mes/año 08/09/2009	Día/mes/año 18/09/2009