


Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*)

Antifungal activity of essential oils and their compounds on the growth of *Fusarium* sp. isolate from papaya (*Carica papaya*)

Laura Leticia BARRERA NECHA ¹ y Laura J. GARCÍA BARRERA²

¹Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional. Carretera Yautepec-Jojutla Km. 8.5 San Isidro, Yautepec, Morelos, México CP 62731 y ²Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Carretera Estatal Santa Inés Tecuexcomac Tepetitla Km 1.5 Tepetitla, Tlaxcala, México CP 90700.
E-mail: lbarrera@ipn.mx  Autor para correspondencia

Recibido: 26/03/2008 Fin de primer arbitraje: 02/05/2008 Primera revisión recibida: 13/05/2008
Fin de segundo arbitraje: 18/06/2008 Segunda revisión recibida: 27/06/2008 Aceptado: 10/07/2008

RESUMEN

El interés mostrado en los últimos años en reconocer la importancia de los hongos fitopatógenos y la dificultad para lograr un buen control de los mismos, así como el aumento en la resistencia a los antifúngicos, ha incrementado la investigación de alternativas basadas en productos naturales. El efecto antifúngico de aceites esenciales y sus compuestos fue investigado en bioensayos de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. Durante ocho días de incubación se midió el diámetro de la colonia y se determinó la tasa de crecimiento micelial. En general, el mejor efecto antifúngico fue observado con el aceite de *Thymus vulgaris*, el cual presentó una total inhibición a 200, 250 y 300 µg/ml. Los aceites de *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum* y *Teloxys ambrosioides*, exhibieron una inhibición del crecimiento micelial dependiente de la dosis al incrementarla de 100 a 300 µg/ml. Mientras que los aceites de *Allium sativum*, *Citrus aurantifolia*, *Ruta chalepensis*, *Mentha piperita* y *Eucalyptus globulus* no tuvieron actividad antifúngica en las diferentes concentraciones probadas. Todos los compuestos con excepción del cineol tuvieron un efecto fungicida o fungistático.

Palabras clave: *Fusarium*, papaya, aceites esenciales, antifúngicos, carvacrol, cineol.

ABSTRACT

The increasing recognition and importance of phytopathogenic fungi, the difficulties encountered in their control and the increase in resistance to antifungal have stimulated the search for natural products alternatives. The antifungal effects of essential oils and their compounds were investigated on mycelial growth inhibition bioassays of *Fusarium* sp. During eight days of incubation was measured colony's diameter and was determined growth rate micelial. In general, better antifungal effect was observed with *Thymus vulgaris* oils which had total inhibition at 200, 250 and 300 µg/ml. *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum* and *Teloxys ambrosioides*, oils exhibited a dose dependent inhibition on mycelial growth to increase the dose of 100 at 300 µg/ml. While *Allium sativum*, *Citrus aurantifolia*, *Ruta chalepensis*, *Mentha piperita* and *Eucalyptus globulus* oils had no activity at different concentration. All compounds with the exception of cineole had a fungicide or fungistatic effect.

Key words: *Fusarium*, papaya, essential oils, antifungal, carvacrol, cinneol.

INTRODUCCIÓN

Muchas especies vegetales producen aceites esenciales los cuales juegan un papel importante en los mecanismos de defensa del hospedero contra fitopatógenos (Mihaliak, *et al.*, 1991). Se ha demostrado que los aceites esenciales y sus compuestos tienen un efecto fungicida (Wilson, *et al.*, 1997; Gogoi *et al.*, 1997; Pitarokili *et al.*, 1999; Meepagala *et al.*, 2002), son inocuos para el medio

ambiente, para los consumidores y para el control de enfermedades poscosecha. La necesidad de reducir el uso de químicos sintéticos en la agricultura ha incrementado el interés por la posible aplicación de aceites esenciales para el control de fitopatógenos. Diversos autores han reportado la actividad antifúngica de los aceites esenciales y sus compuestos: Muller-Riebau *et al.* (1995) evaluaron nueve aceites esenciales contra cuatro especies de hongos fitopatógenos, mientras que Wilson *et al.*

(1997) evaluaron 49 aceites esenciales contra *Botrytis cinerea*. Daferera *et al.* (2003) probaron ocho aceites esenciales contra dos especies de hongos. La actividad antifúngica en estos trabajos estuvo fuertemente asociada con fenoles monoterpénicos, especialmente el timol, carvacrol y eugenol. Se ha encontrado que otros componentes de los aceites esenciales como el aldehído cinámico de la canela, el mentol de la hierbabuena y el eugenol del clavo presentan actividad antifúngica (Bullerman *et al.*, 1977; Hitoko *et al.*, 1980; Karapinar, 1990). Soliman y Badeaa (2002) reportan que los aceites de tomillo y canela a 500 ppm inhibieron totalmente el desarrollo micelial de cuatro hongos fitopatógenos. En otro estudio Velluti *et al.*, (2003) probaron los aceites esenciales de clavo, canela y orégano sobre *Fusarium proliferatum*, los cuales inhibieron el crecimiento de este hongo.

El crecimiento y producción de aflatoxinas de *Aspergillus parasiticus* fueron totalmente inhibidos por el aceite esencial de tomillo (Rasooli y Owlia, 2005). Se ha reportado que la mayoría de los aceites esenciales inhiben el desarrollo de los hongos de poscosecha en condiciones *in vitro* (Bishop y Reagan, 1998; Singh y Tripathi, 1999; Bellerbeck *et al.*, 2001; Hidalgo *et al.*, 2002). El género *Fusarium* es de distribución cosmopolita en todos los tipos de climas y tiene un amplio intervalo de hospedantes entre los cuales se encuentra la papaya (*Carica papaya* L.). La papaya proporciona una fuente económica de vitaminas y minerales en la dieta diaria de las personas. Las altas pérdidas poscosecha debido al desarrollo de *Fusarium* sp. durante el almacenamiento y distribución de los frutos de papaya han sido reportadas por Alvarez y Nishijima, (1987) y Paull *et al.* (1997). El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antifúngica de nueve aceites esenciales y diez de sus compuestos sobre el crecimiento micelial de *Fusarium* sp. Se plantea como hipótesis que los aceites esenciales y sus compuestos presentarán actividades fungistáticas o fungicidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aceites esenciales y sus compuestos

Nueve aceites esenciales comerciales (Aceites y Esencias S.A., México, D.F.) fueron evaluados por su actividad antifúngica: epazote (*Teloxys ambrosioides*), hierbabuena (*Mentha piperita*), ruda (*Ruta chalepensis*), tomillo (*Thymus vulgaris*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*), clavo (*Syzygium*

aromaticum), ajo (*Allium sativum*), limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*). Asimismo, diez compuestos de aceites esenciales (Sigma Aldrich) fueron evaluados: aldehído cinámico, ácido trans-cinámico (canela), carvacrol (tomillo), cineol (ruda y eucalipto), citral (limón), citronelol (limón), geraniol (tomillo y canela), linalol (eucalipto), mentol (hierbabuena) y timol (tomillo).

Aislamiento e identificación de *Fusarium*

Fusarium sp. se aisló de frutos de papaya procedentes del estado de Guerrero, México. Se tomaron porciones del fruto enfermo previamente desinfectadas superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 1% por 3 min. y se colocaron en cajas de Petri que contenían papa-dextrosa-agar (PDA). Las cajas de Petri se incubaron por siete días a 25 °C hasta el desarrollo de las colonias. El hongo aislado se identificó a nivel de género siguiendo las claves de Barnett y Hunter (1972). Para confirmar la patogenicidad de la cepa se inoculó en papaya sana y se volvió a aislar la cepa y sembrar en cajas de Petri con PDA.

Bioensayos de la actividad de aceites esenciales y sus compuestos

Los aceites esenciales y sus compuestos fueron disueltos en tween 20, mezclados y homogeneizados por agitación en matraces con medio de cultivo de PDA semisólido previamente esterilizado, se adicionaron por separado a concentraciones de 100, 150, 200, 250 y 300 µg/ml y se vaciaron en cajas Petri (60 x 15 mm). Un disco de agar de cinco mm del cultivo del patógeno se colocó en el centro de cada caja con los tratamientos, posteriormente las cajas se incubaron a 25 °C por ocho días. El crecimiento micelial (diámetro de la colonia) fue medido con un vernier diariamente. Seis repeticiones se consideraron para cada concentración de aceites esenciales y sus compuestos. Las cajas de Petri control contenían solamente PDA. La evaluación se terminó cuando el micelio de la placa de agar control alcanzó el borde de las cajas. El experimento se realizó por duplicado.

Análisis estadístico

Se usó un diseño experimental de bloques completamente al azar. Los resultados de crecimiento micelial se sometieron a análisis de varianza

(ANOVA) y comparación de medias de Tukey con el programa estadístico de Sigma Stat 2.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A los ocho días de incubación cinco aceites esenciales disminuyeron significativamente el crecimiento micelial de *Fusarium* sp. ($p \leq 0.001$) al aumentar la concentración de 100 a 300 $\mu\text{g/ml}$. Los aceites de *C. zeylanicum*, *S. aromaticum* y *T. vulgaris* presentaron los menores valores de crecimiento micelial de 0 a 36 mm de diámetro de la colonia comparados con el control (50 mm). Los aceites de *M. piperita* y *T. ambrosioides* tuvieron menor crecimiento micelial (30 – 37 mm) a dosis de 200 a 300 $\mu\text{g/ml}$. Los aceites esenciales de *A. sativum*, *C. aurantifolia*, *E. globulus* y *R. chalepensis* no redujeron significativamente el crecimiento micelial (Cuadro 1).

En la Figura 1 se observa que el aceite esencial de *T. vulgaris* presentó una total inhibición del crecimiento micelial a dosis de 200, 250 y 300 $\mu\text{g/ml}$. La tasa de crecimiento para estas dosis fue de 0,0 comparada con el testigo que fue de 5,87 mm d^{-1} .

El aceite esencial de *C. zeylanicum* presentó una inhibición del crecimiento micelial dependiente de la dosis usada. La tasa de crecimiento para este aceite esencial disminuyó de 4,16 a 2,76 mm d^{-1} al incrementar la dosis de 100 a 300 $\mu\text{g/ml}$. El mismo efecto se observó con el aceite esencial de *Z. aromaticum* el cual presentó tasas de crecimiento micelial de 5,52 a 1,22 mm d^{-1} . Con *T. ambrosioides* también se observó una disminución de la tasa de crecimiento micelial de 4,78 a 3,85 mm d^{-1} al incrementar la dosis. Los aceites esenciales de *A.*

sativum, *C. aurantifolia*, *E. globulus*, *M. piperita* y *R. chalepensis* presentaron baja actividad antifúngica a las diferentes concentraciones usadas (Figura 2).

La alta capacidad antifúngica encontrada en los aceites esenciales de *C. zeylanicum* y *T. ambrosioides* coincide con los resultados reportados por Montes y Carvajal (1998) quienes observaron que *Aspergillus flavus* fue totalmente inhibido por los aceites esenciales de estas plantas. Wilson *et al.* (1997) evaluaron 49 aceites esenciales y encontraron que *C. zeylanicum* mostró la mayor actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea*. El aceite esencial de *M. piperita* en este estudio presentó baja actividad antifúngica, sin embargo se ha reportado que este aceite inhibió fuertemente a microorganismos fitopatógenos (Iscan *et al.*, 2002). Bravo-Luna *et al.*, (1998) observaron que los aceites esenciales de *M. piperita*, *E. globulus*, *T. ambrosioides*, *C. zeylanicum*, *S. aromaticum* y *T. vulgaris* a dosis de 10.000 y 7.500 ppm inhibieron el crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*. Estos mismos autores también reportan el efecto inhibitorio sobre la esporulación del mismo hongo a dosis de 150 a 300 ppm de los aceites de *C. zeylanicum*, *S. aromaticum* y *T. vulgaris*. La actividad fungicida de aceites de *C. zeylanicum*, *S. aromaticum* contra patógenos que causan antracnosis en plátano ha sido reportada por Ranasinghe *et al.*, (2002). Las propiedades fungitóxicas de aceites esenciales de seis poblaciones de *Thymus zygis* contra *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum acutatum* fueron reportadas por Pérez-Sánchez *et al.*, (2007). Estos autores también publican la composición química de los aceites esenciales y la correlación entre la concentración de los compuestos y la actividad antifúngica.

Cuadro 1. Efecto de aceites esenciales sobre el crecimiento micelial (mm) de *Fusarium* sp. después de 8 días de incubación a 25 °C.

| Aceite Esencial | Control | 100 $\mu\text{g/ml}$ | 150 $\mu\text{g/ml}$ | 200 $\mu\text{g/ml}$ | 250 $\mu\text{g/ml}$ | 300 $\mu\text{g/ml}$ |
|------------------------------|---------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <i>Allium sativum</i> | 50 a | 46 a | 48 a | 47 a | 42 a | 45 a |
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 50 a | 29 b | 35 b | 16 c | 16 c | 19 c |
| <i>Citrus aurantifolia</i> | 50 a | 47 a | 45 a | 45 a | 46 a | 43 a |
| <i>Eucalyptus globulus</i>) | 50 a | 43 a | 45 a | 47 a | 48 a | 47 a |
| <i>Mentha piperita</i> | 50 a | 40 a | 40 a | 30 b | 35 b | 37 b |
| <i>Ruta chalepensis</i> | 50 a | 43 a | 40 a | 44 a | 43 a | 42 a |
| <i>Teloxys ambrosioides</i> | 50 a | 46 a | 43 a | 43 a | 33 b | 33 b |
| <i>Thymus vulgaris</i> | 50 a | 18 b | 12 b | 0 c | 0 c | 0 c |
| <i>Syzygium aromaticum</i> | 50 a | 36 b | 29 b | 15 c | 13 c | 8 c |

Valores con la misma letra en las filas no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,001$)

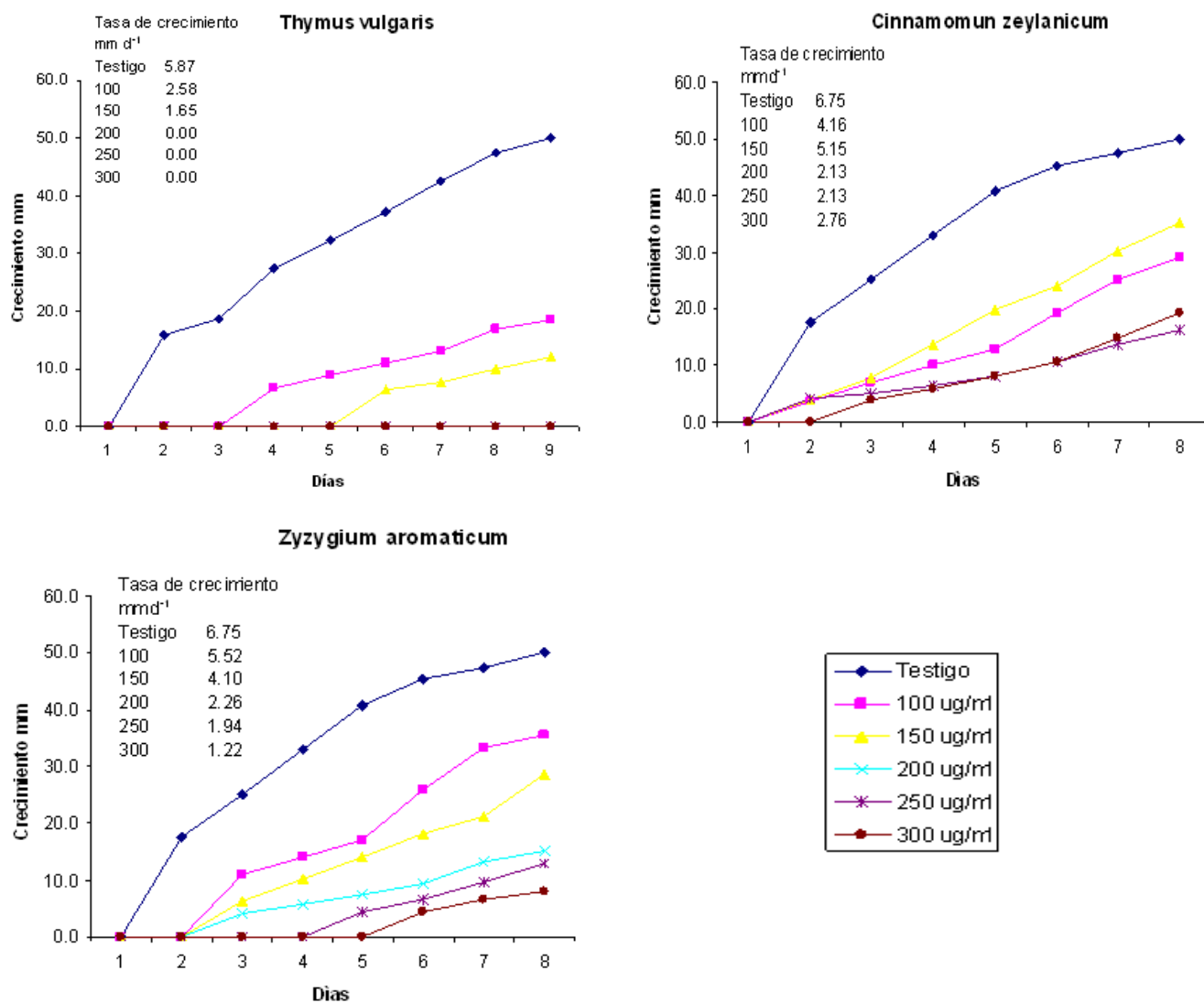


Figura 1. Efecto fungistático de *T. vulgaris*, *C. zeylanicum* y *Z. aromaticum* sobre el crecimiento micelial (mm) de *Fusarium* sp. aislado de papaya

A los ocho días de incubación nueve compuestos de los aceites esenciales disminuyeron significativamente el crecimiento micelial de *Fusarium* sp. ($p \leq 0.001$) a concentraciones de 100 a 300 $\mu\text{g/ml}$. El aldehído cinámico, el carvacrol y el timol no presentaron crecimiento micelial a las cinco dosis evaluadas. El citral, citronelol, geraniol y linalol presentaron nulo crecimiento micelial a partir de la dosis de 200 $\mu\text{g/ml}$. El ácido cinámico presentó una respuesta de dosis efecto para las concentraciones estudiadas. El cineol y mentol no presentaron una reducción significativa del crecimiento micelial (Cuadro 2).

Los compuestos carvacrol, timol y aldehído cinámico presentaron una total inhibición del crecimiento micelial a todas las concentraciones evaluadas (Figura 3). La tasa de crecimiento de *Fusarium* sp. para estos compuestos fue de 0,00 comparada con los testigos que fueron para carvacrol 4,77, timol 6,1y aldehído cinámico 4,3 mm d^{-1} . Estos compuestos son constituyentes de *C. zeylanicum* y *T. vulgaris* los cuales también presentaron una alta actividad antifúngica sobre *Fusarium* sp.

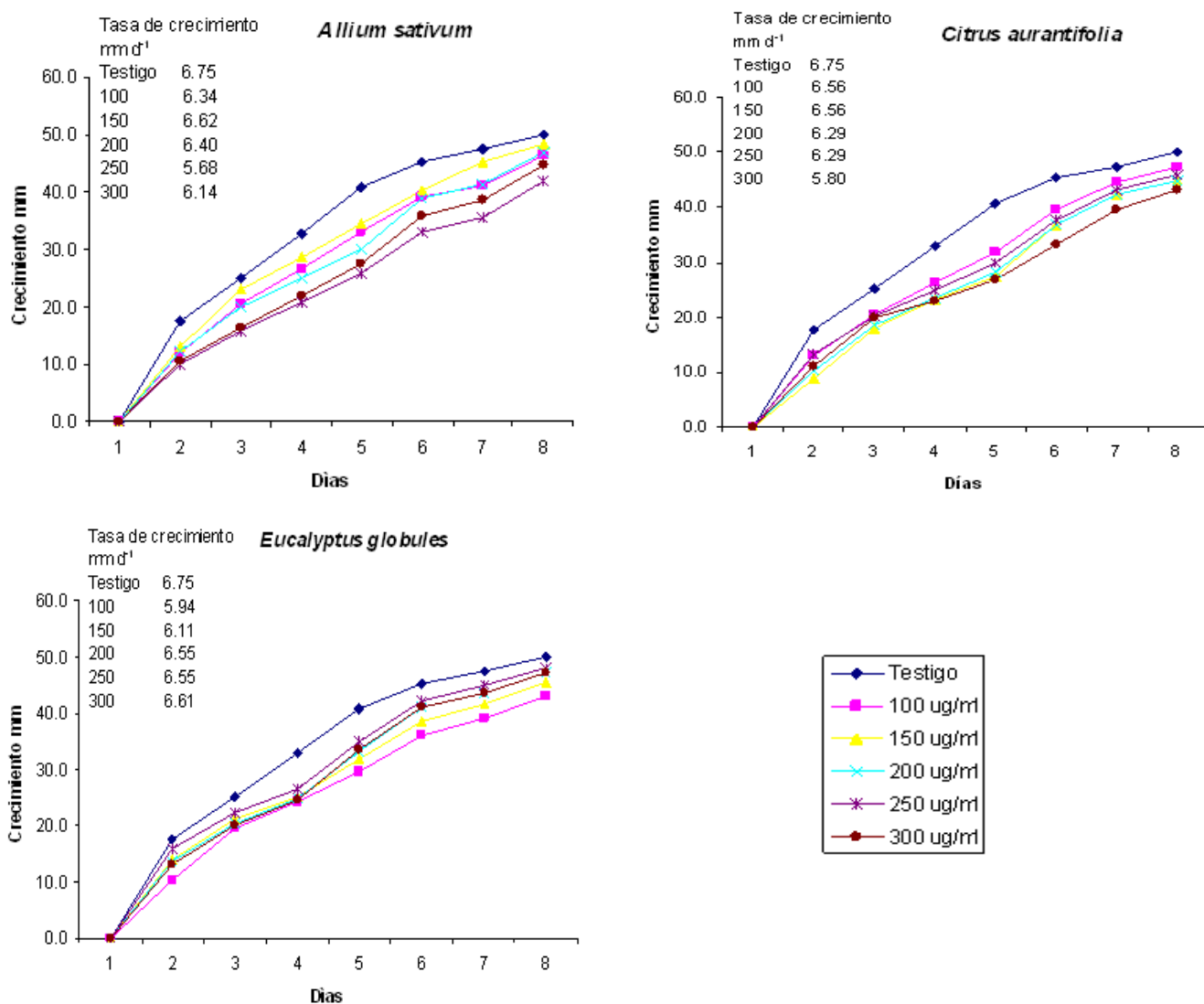


Figura 2. Efecto fungistático de *A. sativum*, *C. aurantifolia* y *E. globulus* sobre el crecimiento micelial (mm) de *Fusarium* sp. aislado de papaya.

Cuadro 2. Efecto de compuestos de aceites esenciales sobre el crecimiento micelial (mm) de *Fusarium* sp. después de 8 días de incubación a 25 °C.

| Compuesto | Control | 100 µg/ml | 150 µg/ml | 200 µg/ml | 250 µg/ml | 300 µg/ml |
|-------------------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Ácido cinámico | 44 a | 38 b | 38 b | 40 a | 26 c | 28 c |
| Aldehído cinámico | 44 a | 0 b | 0 b | 0 b | 0 b | 0 b |
| Carvacrol | 49 a | 0 b | 0 b | 0 b | 0 b | 0 b |
| Cineol | 49 a | 45 a | 40 a | 46 a | 40 a | 40 a |
| Citral | 49 a | 25 b | 17 b | 0 c | 0 c | 0 c |
| Citronelol | 50 a | 31 b | 33 b | 0 c | 0 c | 0 c |
| Geraniol | 49 a | 41 a | 21 b | 0 c | 0 c | 0 c |
| Linalol | 50 a | 50 a | 13 b | 0 c | 0 c | 0 c |
| Mentol | 49 a | 45 a | 43 a | 40 a | 40 a | 33 b |
| Timol | 49 a | 0 b | 0 b | 0 b | 0 b | 0 b |

Valores con la misma letra en las filas no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.001$)

Se presentó una actividad antifúngica con los compuestos de citral, geraniol, linalol y citronelol a dosis de 200, 250 y 300 $\mu\text{g/ml}$. La tasa de crecimiento para estos compuestos y concentraciones fue de 0,00 comparada con la de los testigos para citral 4,77; geraniol 5,5 y linalol 7,46 mm d^{-1} (Figura 4). Los compuestos mentol, cineol y ácido cinámico tuvieron una baja actividad fungistática para todas las concentraciones probadas. Se observaron tasas de crecimiento de 5,42 a 4,26 mm d^{-1} para mentol, de 4,77 a 3,37 mm d^{-1} para cineol y de 3,9 a 3,4 mm d^{-1} para el ácido cinámico al incrementar la dosis de 100 a 300 $\mu\text{g/ml}$. Estos compuestos son constituyentes de *E. globulus*, *M. piperita* y *R. chalepensis* los cuales

también tuvieron baja actividad antifúngica sobre *Fusarium* sp. En este caso se observó una correlación entre la actividad antifúngica del aceite esencial y sus constituyentes. Bravo-Luna *et al.*, (2000) reportaron una total inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme* con eugenol, aldehído cinámico, timol y linalol a dosis de 1000 ppm. Los compuestos de carvacrol, timol, y citral mostraron inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*, *Alternaria arborescens* y *Rhizopus stolonifer* (Plotto *et al.* 2003).

Existen trabajos recientes sobre los posibles mecanismos de acción de los aceites esenciales y sus

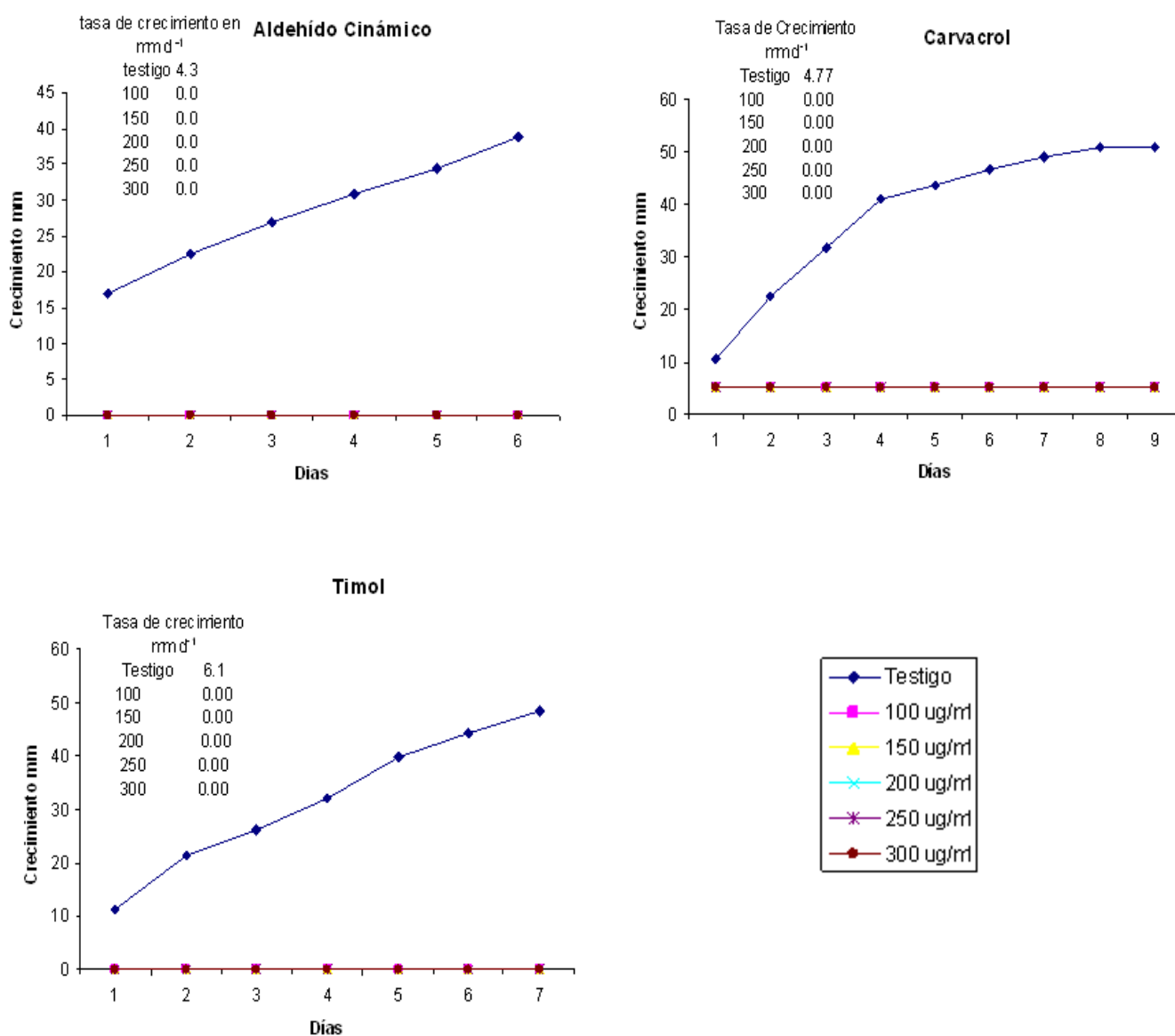


Figura 3. Actividad antifúngica de aldehído cinámico, carvacrol y timol sobre el crecimiento micelial (mm) de *Fusarium* sp aislado de papaya.

componentes entre los cuales se pueden citar los siguientes. Los aceites esenciales de *Thymus eriocalyx* y *Thymus X-porlock* presentaron como componente mayoritario el timol e inhibieron el crecimiento micelial y la producción de aflatoxinas de *Aspergillus parasiticus* (Rasooli y Owlia, 2005). Estos autores también reportan que *A. parasiticus* en presencia de 250 ppm de los aceites mencionados, muestran un daño irreversible de la pared celular, la membrana celular y organelos celulares. Estos mismos aceites esenciales presentaron actividad antimicrobiana sobre *Listeria monocytogenes* ocasionando ruptura de la pared celular con un

incremento en la rugosidad y carencia de citoplasma (Rasooli I. *et al.*, 2006). Los aceites esenciales de *Thymus pulegioides* presentaron una actividad antifúngica sobre hongos clínicamente relevantes, debido a la lesión de la membrana citoplásmica y a una reducción considerable del contenido de ergosterol (Pinto E., 2006). *Escherichia coli* presentó cambios substanciales en la composición de ácidos grasos de la membrana celular en presencia de limoneno y aldehído cinámico, mientras que *Salmonella typhimurium* presentó el mismo efecto en presencia de carvacrol y eugenol (Di Pascua R., *et al.*, 2006)

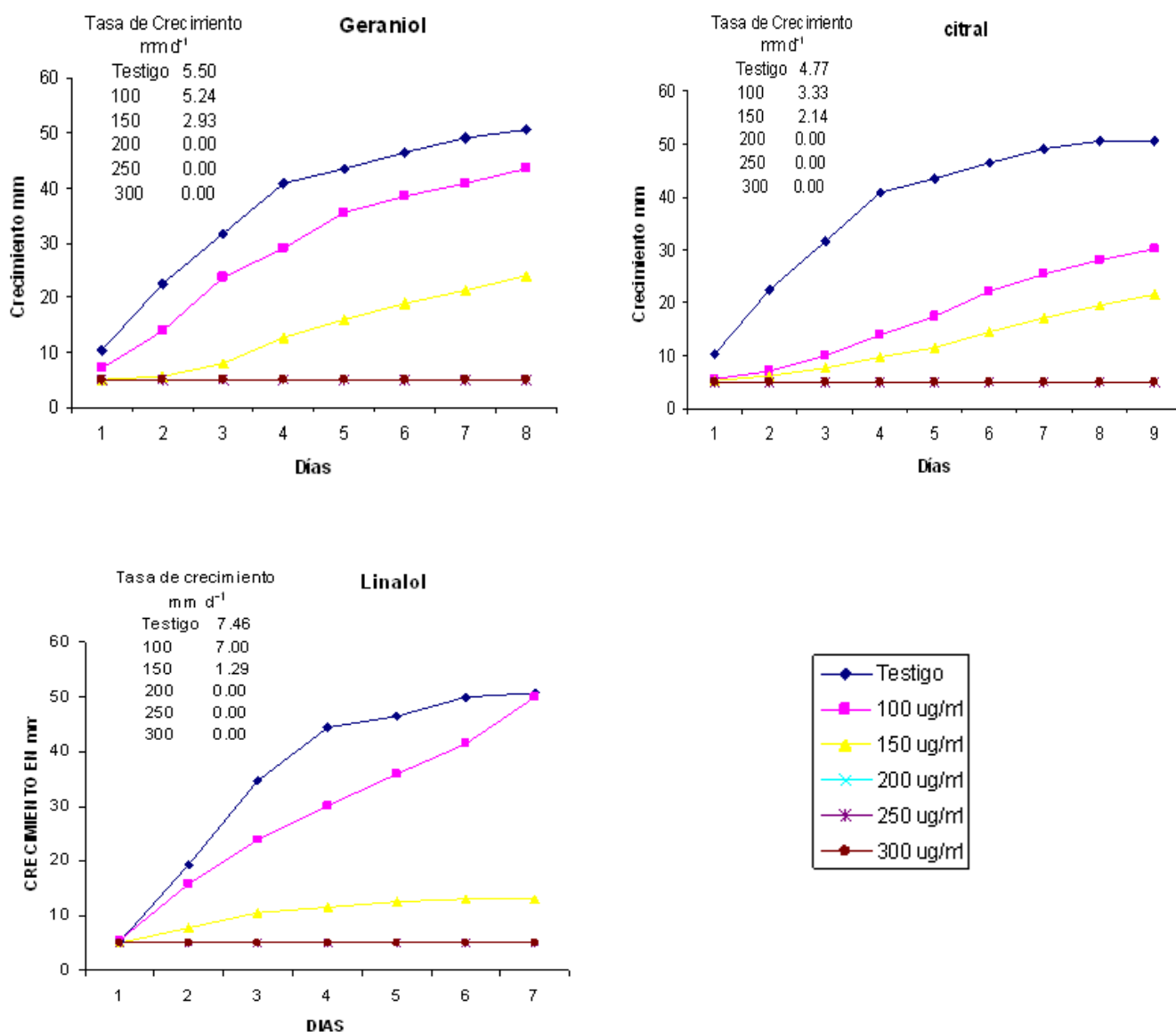


Figura 4. Efecto antifúngico de geraniol, citral y linalol sobre el crecimiento micelial (mm) de *Fusarium* sp. aislado de papaya.

CONCLUSIONES

Los aceites esenciales de *C. zeylanium*, *S. aromaticum* y *T. vulgaris* presentaron mayor inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. en tanto que los compuestos de carvacrol, timol y aldehído cinámico inhibieron totalmente su crecimiento micelial. Estos aceites y compuestos podrían ser una alternativa atractiva para el control de enfermedades causadas por *Fusarium* en papaya. También es necesario realizar estudios con estos aceites y compuestos sobre frutos de papaya para evaluar su potencial fungicida o fungistático.

LITERATURA CITADA

- Alvarez, A. M. and W. T. Nishijima. 1987. Postharvest diseases of papaya. *Plant Disease* 71:682-686.
- Barnet, H.L. and B.B. Hunter. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4^o ed. Macmillan Publishing Company. U.S.A. 218 p.
- Bellerbeck, V. G.; C. G. De Roques, J. M. Bessiere, J. L. Fonvieille and R. Dargent. 2001. Effect of *Cymbopogon nardus* (L) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. *Can. J. Microbiol.* 47:9-17,
- Bishop, C. D. and L. Reagan. 1998. Control of the storage pathogen *Botrytis cinerea* on Dutch white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) by the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Essential Oil Res.* 10:57-60.
- Bravo Luna, L.; K. Bermúdez Torres and R. Montes Belmont. 1998. Growth mycelial inhibition and sporulation of *Fusarium moniliforme* sheld by plant essential oils and some their chemical components. *Mex. J. Phytopathol.* 16(1):18-23.
- Bravo Luna, L.; K. Bermúdez Torres and R. Montes Belmont. 2000. Inhibition of *Fusarium moniliforme* by plant powders and some of their chemical components. *Management Integral of Pest.* 57:29-34.
- Bullerman, L.B., Y. Lieu and S.A. Seier. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *J. Food. Sci.* 42:1107-1109.
- Daferera, J. D.; N. B. Ziogas and G. M. Polissiou. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection* 22:39-44.
- Di Pasqua R., N., Hoskins, G. Betts and G. Mauriello. 2006. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addiction of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *Journal Agricultural and Food Chemistry.* 54:2745-2749.
- Gogoi, R.; P. Baruah and S. C. Nath. 1997. Antifungal activity of the essential oil of *Litsea cubeba* Pers. *J. Essential Oils Res.* 9:213-215.
- Hidalgo, P. J.; J. L. Ubera, J. A. Santos, F. LaFont, C. Castelanos, A. Palomino and M. Roman. 2002. Essential oils in *Culamintha sylvatica*. *Broma. ssp. ascendens* (Jordan) P.W. Ball wild and cultivated productions and antifungal activity. *J. Essential Oil Res.* 14:68-71.
- Hitoko, H.; S. Morozumi, T. Wauke, S. Sakai and H. Kurata. 1980. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxicogenic fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 39:818-822.
- Işcan, G.; N. Kirimer, M. Kürkcüoğlu, K. H. Başer and F. Demirci. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 50:3943-3946.
- Karapinar, M. 1990. Influence of menthol and thymol on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *Mitt. Geb. Lebens. Hyg.* 81:287-295.
- Meepagala, K. M.; G. Sturtz and D. E. Wedge. 2002. Antifungal constituents of the essential oil fraction of *Artemisia dracunculus* L. var. *dracunculus*. *J. Agric. Food. Chem.* 50:6989-6992.
- Mihaliak, C.A.; J. Gershenzo and R. Croteau. 1991. Lack of rapid monoterpene turnover in rooted plants, implication for theories of plant chemical defense. *Oecologia* 87:373-376.
- Montes B. R. and M. Carvajal. 1998. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection* Vol. 61, No. 5:616-619.

- Muller-Riebau F., B. Berger and O. Yegen. 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oil of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43:2262-2266.
- Paull, R. E.; W. Nishijima, M. Reyes and C. Cavaletto. 1997. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.) *Postharvest Biology and Technology* 11:165-179.
- Pérez-Sánchez, R., F. Infante, C. Gálvez and J.L. Ubera. 2007. Fungitoxic activity against phytopathogenic fungi and the chemical composition of *Thymus zygis* essential oils. *Food Sci. Tech. Int.* 13(5):341-347.
- Pinto E., C. Pina-Vaz, L. Salgueiro, M.J. Goncalves, S. Costa-de-Oliveira, C. Cavaleiro, A. Palmeira, A. Rodríguez and J. Martínez-de-Oliveira. 2006. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *J. Medical Microbiol.* 55:1367-1373
- Pitarokili, D.; O. Tzakou, M. Couladis and E. Verykokidou. 1999. Composition and antifungal activity of the essential oil of *Salvia pomifera* subsp. *calycina* growing wild in Greece. *J. Essential Oil Res.* 11:655-659.
- Plotto A.; D. D. Roberts and R. G. Roberts. 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Acta Hort.* 628:737-745.
- Ranasinghe L., B. Jayawardena and K. Abeywickrama. 2002. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. *Letters in Applied Microbiology* 35:208-211.
- Rasooli I. and P. Owlia. 2005. Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *Phytochemistry* 66(24):2851-2856.
- Rasooli I., M.B. Rezaei and A. Allameh. 2006. Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of Thyme essentials oils on *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Infect. Dis.* 10(3):236-241.
- Singh, J. and N. N. Tripathi. 1999. Inhibition of storage fungi of black gram (*Vigna mungo* L.) by some essential oils. *Flavour Fragrance J.* 14:42-44.
- Soliman K.M. and R. I. Badeaa. 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem. Toxicol.* 40(11):1669-1675.
- Velluti A.; V. Sanchis, A. J. Ramos, J. Egido and S. Marin. 2003. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *Int. J. Food Microbiol.* 89(2-3):145-154.
- Wilson, C. L.; J. M. Solar, A. El Ghaouth and M. E. Wisniewski. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 81:204-210.