

**Recepción:** 3 de septiembre de 2018

**Aprobación:** 21 de febrero de 2019

# ESPECIES DE **ALTERNARIA** ASOCIADAS A CULTIVOS DE **MANZANA Y PERA** EN LA REGIÓN DEL ALTO VALLE DEL RÍO NEGRO, **ARGENTINA**

ALTERNARIA SPECIES ASSOCIATED WITH APPLE AND  
PEAR CROPS IN THE REGION OF ALTO VALLE DEL RÍO,

**Martha Elizabeth Benavides**

Magister en Biotecnología  
Universidad de Boyacá.  
(Tunja, Colombia)  
mebenavides@uniboyaca.edu.co

**Virginia Fernandez Pinto**

Doctora en Química  
Universidad de Buenos Aires,  
(Buenos Aires, Argentina)  
virginia@qo.fcen.uba.ar

**Graciela Pose**

Doctora en Ciencias Biológicas  
Universidad de Quilmes,  
(Bernal, Argentina)  
posegraciela@gmail.com

## Resumen

El género fúngico *Alternaria* contiene especies tanto saprofitas como patógenas. Como patógenos de las plantas, causan serios problemas en la agricultura, reduciendo el rendimiento del cultivo y deteriorando frutos en el almacenamiento. Las especies de este género también pueden ser micotoxicogénicas, capaces de colonizar los cultivos y acumular en los productos infectados, metabolitos secundarios que pueden afectar la salud humana y/o animal. En el presente trabajo, se muestrearon frutos de manzano (*Malus domestica*) y pera (*Pyrus comunnis*) en tres localidades del Alto Valle del río Negro (Cipolletti, General Roca y Villa Regina), a fin de determinar la presencia de especies del género *Alternaria* asociadas a estos cultivos en la región. Se obtuvieron un total de 267 aislamientos pertenecientes al género *Alternaria*. Los mismos fueron identificados por sus características morfológicas (Simmons, 2007) como iguales o similares a *Alternaria tenuissima*, en mayor proporción (85 %). También, fueron identificadas *A. mali* y *A. gaisen*, especies hospedador-específicas de manzana y pera, respectivamente. La importancia del presente estudio radica en que permite considerar el riesgo a la sanidad de los cultivos locales a causa de este patógeno, y evaluar la posibilidad de la presencia de micotoxinas en frutos infectados, que pudiendo alcanzar la cadena de producción, sería un riesgo a la salud del consumidor.

**Palabras clave:** *Alternaria*, manzana, pera, micotoxinas.

## Abstract

The fungal genus *Alternaria* contains both saprophytic and pathogenic species. As plant pathogens, they cause serious problems in agriculture, reducing crop productivity and deteriorating fruit storage. Species of this genus can also be *mycotoxicogenic*, able to colonize crops and accumulate in infected products, secondary metabolites that can affect human and/or animal health. In the present work, apple (*Malus domestica*) and pear (*Pyrus comunnis*) fruits were sampled in three localities of the Alto Valle del río Negro (Cipolletti, General Roca and Villa Regina), in order to determine the presence of species of the genus *Alternaria* associated with these crops in the region. A total of 267 isolates belonging to the genus *Alternaria* were obtained. They were identified by their morphological characteristics (Simmons, 2007) as being equal or similar to *Alternaria tenuissima*, in a higher proportion (85 %). Also, *A. mali* and *A. gaisen*, host-specific species of apple and pear, respectively, were identified. The importance of the present study is due to the fact that it allows to consider the risk to the health of local crops because of this pathogen, and to evaluate the possibility of the presence of *mycotoxins* in infected fruits, which could reach the production chain, would be a risk to the health of the consumer.

**Keywords:** *Alternaria*, apple, pear, *mycotoxins*.

**ESPÉCIES ALTERNARIAS ASSOCIADAS A COLHEITA DE MAÇÃ E PERA NA REGIÃO DO ALTO VALE DO RIO NEGRO, ARGENTINA**

**Resumo**

O gênero fúngico *Alternaria* contém espécies saprófitas e patogênicas. Como patógenos das plantas, eles causam sérios problemas na agricultura, reduzindo o rendimento das culturas e deteriorando os frutos no armazenamento. As espécies desse gênero também podem ser micotoxicogênicas, capazes de colonizar as culturas e acumular metabólitos secundários que podem afetar a saúde humana e / ou animal nos produtos infectados. No presente trabalho, frutos de macieira (*Malus domestica*) e pera (*Pyrus comunnis*) foram amostrados em três locais do Vale do Alto Rio Negro (Cipolletti, General Roca e Villa Regina), a fim de determinar a presença de espécies do gênero *Alternaria* associados a essas culturas na região. Foram obtidos 267 isolados pertencentes ao gênero *Alternaria*. Eles foram identificados por suas características morfológicas (Simmons, 2007) como iguais ou semelhantes a *Alternaria tenuissima*, em maior proporção (85%). Além disso, *A. mali* e *A. gaisen*, espécies específicas de hospedeiro de maçã e Pera, respectivamente, foram identificadas. A importância deste estudo é que permitir considerar o risco para a saúde das culturas locais devido a esse patógeno e avaliar a possibilidade da presença de micotoxinas nos frutos infectados, que podem atingir a cadeia produtiva, seriam um risco para a saúde do consumidor.

**Palavras-chave:** *Alternaria*, maçã, Pera, micotoxinas.

**ESPECES ALTERNARIA ASSOCIEES AUX CULTURES DE POMMES ET DE POIRES DANS LA REGION DE ALTO VALLE DEL RÍO NEGRO, ARGENTINE**

**Résumé**

Le genre fongique *Alternaria* contient autant des espèces saprophytes que des espèces pathogènes. Comme pathogènes des plantes, ils causent de graves problèmes en agriculture, en réduisant la production des cultures et en détériorant les fruits en stockage. Les espèces de ce genre peuvent également être mycotoxicogènes, capables de coloniser les cultures et de s'accumuler dans les produits infectés, et des métabolites secondaires qui peuvent affecter la santé humaine et/ou animale. Dans ce travail, des échantillons de pommes (*Malus domestica*) et de poires (*Pyrus comunnis*) ont été prélevés dans trois localités d'Alto Valle del río Negro (Cipolletti, General Roca et Villa Regina), dans le but de déterminer la présence des genres *Alternaria* associés à ces cultures dans cette région. Au total, 267 isolats appartenant au genre *Alternaria* ont été obtenus. Ils ont été identifiés par leurs caractéristiques morphologiques (Simmons, 2007) comme égaux ou similaires à *Alternaria tenuissima*, en plus grande proportion (85 %). Aussi, *A. mali* et *A. gaisen*, des espèces spécifiques d'hôtes du pommier et du poirier, respectivement, ont été identifiées. L'importance de cette étude réside dans le fait que cela permet de considérer le risque pour la santé des cultures locales à cause de cet agent pathogène, et d'évaluer la possibilité que la présence de mycotoxines dans les fruits infectés, qui pourraient atteindre la chaîne de production, constitue un risque pour la santé du consommateur.

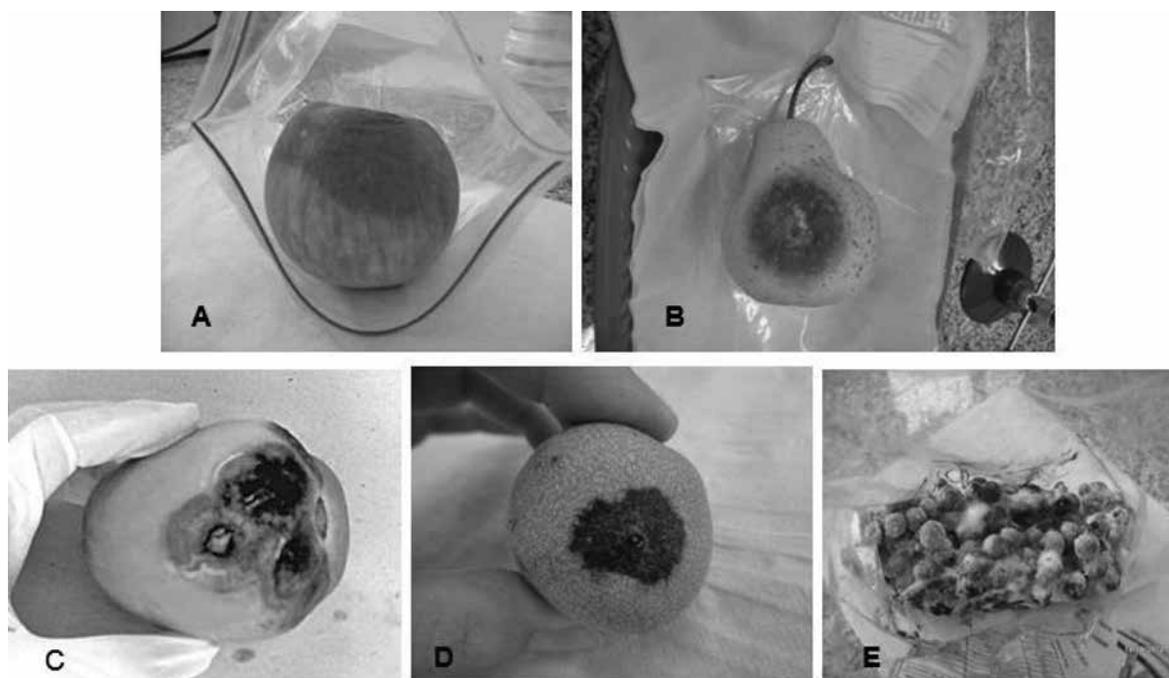
**Mots clés:** *Alternaria*, pomme, poire, mycotoxines.

## INTRODUCCIÓN

*Alternaria* es un género común de hongos, que presenta numerosas especies que son saprofitas en materiales orgánicos, y patógena en muchas plantas. Como fitopatógenas, las especies de *Alternaria* afectan a hojas, tallos, flores, mazorcas, espigas y frutos de plantas anuales, en particular hortalizas y ornamentales, pero también árboles de cítricos, peras y manzanas (Fernández Pinto y Patriarca, 2017; Logrieco *et al.*, 2009; Bottalico y Logrieco, 1998) (ver Figura 1). Además de causar pérdidas económicas, al colonizar los cultivos, las especies del género *Alternaria* son capaces de acumular en los productos infectados, gran cantidad de

sustancias bioactivas denominadas metabolitos secundarios. Algunos de ellos, denominados micotoxinas, representan un gran riesgo para la salud humana y animal, debido a los efectos adversos que su contacto o ingestión provoca (Logrieco *et al.*, 2009; Mislivec *et al.*, 1987). Las micotoxinas de *Alternaria* son producidas por estos mohos en muchos productos alimenticios y sus procesados. El consumo de estos productos puede contribuir a un aumento en la ingestión de las micotoxinas en la dieta humana, y convertirse en una preocupación para la salud pública (Munitz *et al.*, 2013; Greco *et al.*, 2012; Scott *et al.*, 2012; Pose *et al.*, 2010; Terminiello *et al.*, 2006; Bottalico y Logrieco, 1998; Montenuro y Visconti, 1992).

**Además de causar pérdidas económicas, al colonizar los cultivos, las especies del género *Alternaria* son capaces de acumular en los productos infectados**



**Figura 1:** Podredumbre causada por *Alternaria spp.* en frutos. **A.** Manzana (foto Mónica Moya); **B.** Pera (foto Mónica Moya); **C.** Tomate (foto Graciela Pose); **D.** Nuez (foto Carolina Temperini); **E.** Uva (foto Mónica Moya).

Se conoce que las especies de *Alternaria* son capaces de producir, al menos, 70 metabolitos secundarios. Son conocidos como posibles contaminantes de alimentos con potencial riesgo toxicológico, el ácido tenuazónico (TeA), alternariol (AOH), alternariol monometil éter (AME), las altertoxinas I, II y III (ATX-I, ATX-II, ATX-III) y altenueno (ALT) (Andersen *et al.*, 2004; Bottalico *et al.*, 1998; Ostry, 2008; Terminiello *et al.*, 2006.). La exposición a toxinas de *Alternaria* ha sido ligadas a varios efectos adversos sobre la salud (Ostry, 2008).

Por otra parte, algunas especies de *Alternaria* tienen una muy alta especificidad por el rango de hospedador: solamente ciertas especies, cultivares o genotipos de plantas son afectadas. Particularmente, estas especies pueden producir compuestos conocidos como toxinas hospedador específicas (HSTs - Host Specific Toxins). Estas resultan ser muy tóxicas para las plantas que son susceptibles, pero tiene muy poco, o no lo tiene, efecto sobre otras plantas (Otani y Kohmoto, 1992; Fernández y Patriarca, 2017). Entre los patógenos del género *Alternaria*, siete HSTs son conocidas en la literatura. La importancia de tales toxinas radica en su potencial toxicidad para el hombre y/o animales. Por ejemplo, las toxinas AAL son motivo de preocupación debido a su similitud estructural y toxicológica a las fumonisinas, estas últimas son causa de leucoencefalomacia equina, edema pulmonar en cerdos y están asociadas a cáncer de esófago en humanos (Shier *et al.*, 1991).

En la Provincia de Río Negro (Argentina), particularmente en el Alto Valle del río Negro, se cultiva el 85 % de frutos de pepita del país. La manzana es el principal cultivo, pero también se cosechan peras, duraznos, pelones, nueces, uvas y frutas finas. Río Negro resulta ser la primera productora y

exportadora de frutas de pepitas del país. Esta producción genera toda una rama de industrias relacionadas, como sidreras, jugueras, bodegas, galpones de empaque y fábricas de dulces, y aportan su consiguiente relación a la economía de las ciudades que conforman el Alto Valle y de la provincia en general (CAFI, 2014).

Como se mencionó, especies pertenecientes al género *Alternaria* están asociadas a patologías de cultivos de manzana y pera. En manzano, algunas especies de *Alternaria* causan enfermedades foliares (Andersen *et al.*, 2006). También, infectan los frutos jóvenes a través del tubo calicinal abierto, llegando a las semillas y la pared de los carpelos durante el desarrollo, causando la enfermedad conocida como 'corazón mohoso', además de provocar manchas en la superficie del fruto (Jackson y Al-Taher, 2008). En cultivares de pera, pueden provocar defoliación, pudrición, hundimientos en los brotes jóvenes, manchas redondas de color marrón oscuro y caída temprana de los frutos. Asimismo, se conocen dos especies hospedador específicas para estos frutos, *Alternaria mali* (manzana) y *Alternaria gaisen* (pera) (Simmons, 2007), capaces de producir dos toxinas hospedador específicas, la toxina AM y la toxina AK, respectivamente. La toxina AM está involucrada en la producción de manchas foliares en hojas de árboles de manzano (Montemurro y Visconti, 1992); y la toxina AK, en la producción de manchas negras en frutos de pera (Tanaka y Tsuge, 2000).

Cuando se trata tanto de la seguridad alimentaria como de la patología de plantas, la determinación de hongos fitopatógenos y micotoxicogénicos es esencial. En la industria de alimentos, es importante conocer si estos están presentes en el material crudo, previo a la producción, en orden a decidir el empleo del material; y

**Se conoce que las especies de *Alternaria* son capaces de producir, al menos, 70 metabolitos secundarios.**

en la agricultura, es igualmente importante conocer si el hongo patógeno para la planta está presente, en orden a emplear el correcto régimen de prevención (Andersen *et al.*, 2006). Asimismo, la correcta y precisa identificación a nivel especie es necesaria, porque la especie reconocida bajo un determinado nombre representa un conjunto de caracteres, como la preferencia de crecimiento en determinados sustratos, la interacción con el hospedador y la producción de metabolitos, lo que permite predecir su comportamiento (Polizzotto *et al.*, 2012; Andersen *et al.*, 2005; Filtenborg *et al.*, 2002; Schulz *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2000). Así, el objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia del género *Alternaria* en cultivos de pera y manzana en la zona productora del alto Valle del río Negro, e identificar a nivel de especie los aislamientos asociados a tales cultivos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreo

Quince frutos sanos fueron colectados directamente de las plantas de manzano y pera, en cultivos tradicionales de tres localidades representativas de la zona productora del Alto Valle del río Negro (una zona de 100 kilómetros entre las provincias de Neuquén y Río Negro, que va bordeando el norte del curso de agua):

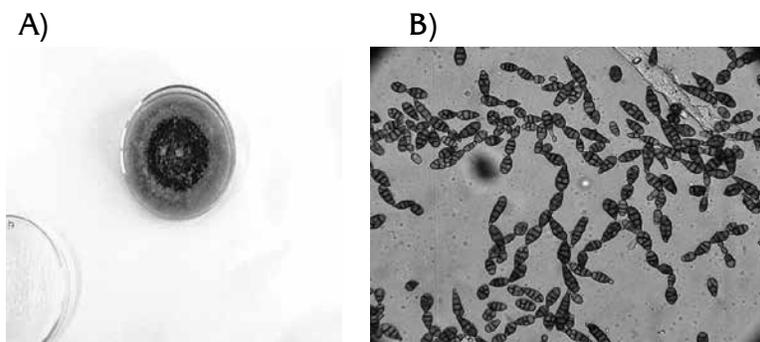
Cipolletti, General Roca y Villa Regina, durante el verano de los años 2012-2013. En el momento del muestreo, cada fruto fue colocado en bolsas, para evitar algún tipo de contacto entre muestras.

### Aislamiento

La microbiota fúngica fue obtenida de la superficie de la fruta, colocando los mismos en agua peptonada, y luego de agitar por 5 min, un mL de esta solución fue inoculada, en alícuotas de 0,1 ml, sobre placas de petri conteniendo Agar Papa Dextrosa (PDA) con cloranfenicol (0,1%). Las placas fueron incubadas a 25 °C durante 7 días.

Las colonias que mostraron características distintivas del género *Alternaria* (micelios de coloración gris, oscuros, pardo negruzcos o negros, presentando en todos los casos desarrollo afelpado) fueron observadas microscópicamente para la confirmación del género, basada en la presencia de conidios periformes con septos transversales y longitudinales (dictiosporas) (ver Figura 2). Con el objetivo de obtener un cultivo puro, cada una de las diferentes colonias obtenidas en las placas de aislamiento general fueron reaisladas por inoculación con ansa aguja de pequeños trozos de micelio o esporas a placas con medio de cultivo papa zanahoria (APZ) e incubadas hasta su esporulación a 25 °C.

**El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia del género *Alternaria* en cultivos de pera y manzana en la zona productora del alto Valle del río Negro**



**Figura 2:** El género *Alternaria*. A) Colonia típica en medio APZ; B) conidios.

**Fuente:** elaboración propia.

*Cultivos de referencia*

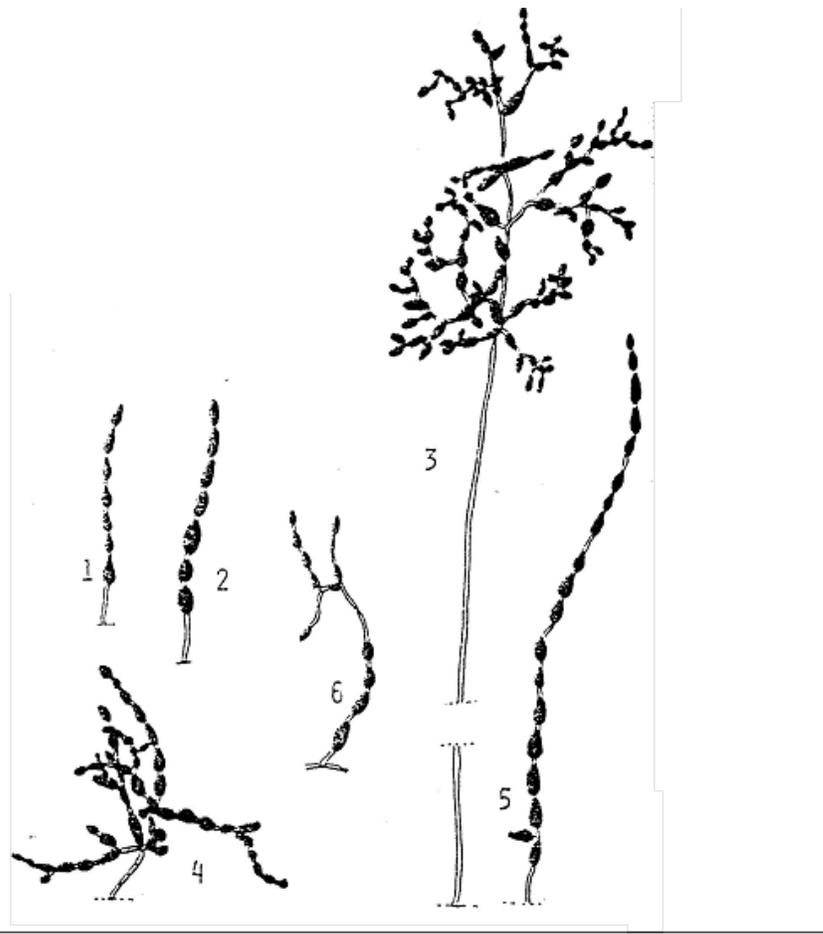
Para ayudar a la clasificación morfológica, se contó con cuatro cultivos de referencia provenientes de la colección del Dr. Emory G. Simmons (Wabash College, Crawfordville, Indiana, EE. UU.): *A. alternata* (EGS 34128), *A. tenuissima* (EGS 34015), *A. arborescens* (EGS 39128), y *A. infectoria* (EGS 27193).

*Identificación*

La identificación morfológica se llevó a cabo observando las características del

micelio, los modelos de esporulación y los conidios, según Simmons (2007) (ver Figura 3). Para ello, los aislamientos fueron sembrados en Agar Papa Zanahoria y Agar V8 e incubados a 25 °C durante 7 días en ciclos alternantes de luz-oscuridad (8-16 h). Todos los cultivos utilizados para la identificación, fueron realizados a partir de un cultivo monospórico (Pitt y Hocking, 1997; Bottalico y Logrieco, 1992; Nelson *et al.*, 1983).

Todos los cultivos utilizados para la identificación, fueron realizados a partir de un cultivo monospórico



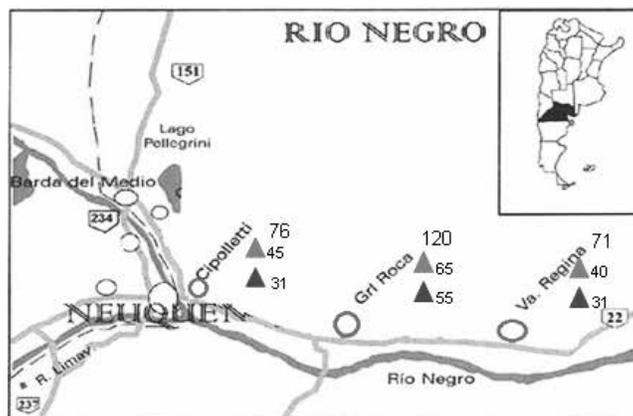
**Figura 3.** Modelos de esporulación propuestos para grupo-especies de *Alternaria* (1- *A. dauci* s-g, 2- *A. gaisen* s-g, 3- *A. arborescens* s-g, 4- *A. alternata* s-g, 5- *A. tenuissima* s-g, 6- *A. infectoria* s-g).

**Fuente:** Simmons y Roberts (1993).

## RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 267 aislamientos pertenecientes al género *Alternaria*. Un total

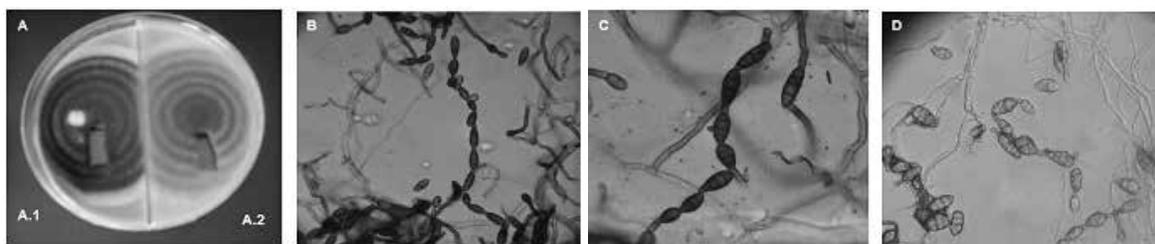
de 120 aislamientos se obtuvieron en la zona de General Roca, 76 aislamientos de la localidad de Cipolletti y 71 aislamientos en la zona de Villa Regina (ver Figura 4)



**Figura 4.** Alto Valle del río Negro. Regiones de muestreo, número de aislamientos totales (negrita) y por fruto en cada región (Manzana, Pera) Fuente. Turismo Alto Valle.

De manzana, fueron obtenidos un total de 150 aislamientos, de los cuales, 79 % (118) fueron identificados como morfológicamente iguales o similares a *Alternaria tenuissima*; 12 % (19), como *Alternaria mali*; y un aislamiento como *Alternaria alternata*. Seis aislamientos no presentaron similitud morfológica

a las especies descritas por Simmons (2007) (ver Figura 5). De pera, se obtuvieron un total de 117 aislamientos, de los cuales, el 91 % (109) se identificaron morfológicamente como *A. tenuissima*; y 7 % (9), como *A. gaisen* (ver Figura 5); y un aislamiento se identificó como *A. infectoria*.



**Figura 5.** Características morfológicas **A.** Desarrollo en placa: **A.1.** Colonia en Agar Papa Zanahoria, **A.2.** Colonia en Agar V8; **B.** *A. mali*, Modelo de esporulación; **C.** *A. tenuissima*, Modelo de esporulación; **D.** *A. gaisen*, conidios.

**Fuente:** elaboración propia.

## DISCUSIÓN

Confirmando su ubicuidad, hemos determinado la presencia de especies del género *Alternaria* asociadas a la producción de manzana y pera en la región productora del Alto Valle del río Negro. Asimismo, hemos determinado como preponderante la especie *A. tenuissima* (85 %) en la superficie de ambos frutos, además de determinar la presencia de aislamientos morfológicamente iguales o similares a *A. mali* en manzana y *A. gaisen* en pera, especies hospedador específicas de estos cultivos.

En manzana, especies de *Alternaria* causan enfermedades foliares, tales como puntos negros, manchas en hojas (Jones y Aldwinckle, 1990), varios tipos de pudrición de la fruta en poscosecha (Jones y Aldwinckle, 1990; Serdani *et al.*, 1998) y producen una gran variedad de metabolitos en cultivos puros, tanto como en manzanas artificialmente inoculadas (Andersen *et al.*, 2002; Serdani *et al.*, 2002). Esto ha puesto de manifiesto que, los metabolitos de *Alternaria* pueden ser formados en manzanas infectadas, lo cual resulta indeseable, ya que esto reduce la calidad y la seguridad del alimento y sus productos. Los metabolitos de *Alternaria* tienen diferentes efectos tóxicos sobre diferentes organismos (Andersen *et al.*, 2006).

La podredumbre negra en manzanas causada por *Alternaria spp.*, fue reportada primeramente en Japón en los años '50, Australia (Horlock, 2006) y más recientemente en Italia (Rotondo *et al.*, 2012). La podredumbre de los frutos se caracteriza por círculos marrones a negros, ligeramente hundidos, sobre la cáscara de la fruta. En Australia, las manchas foliares y la podredumbre de frutos causada por *Alternaria spp.*, provocan pérdidas del rendimiento de los cultivares de entre 15 a

25 % (Dalphy *et al.*, 2014).

*A. tenuissima* ha sido reportada asociada a cultivares de manzana y como causante del deterioro de los frutos en Australia y Italia (Rotondo *et al.*, 2012; Hartevelde *et al.*, 2013; Dalphy *et al.*, 2014). En Argentina, *A. tenuissima* fue asociada a la enfermedad de corazón mohoso (Serdani *et al.*, 1998). Varios estudios confirman la capacidad de esta especie en la producción AOH, AME y TeA. Dos de estas micotoxinas, AOH y AME se han detectado en manzanas infectadas naturalmente y jugos de manzana (Delgado *et al.*, 1998; Andersen *et al.*, 2004; Ostry 2008). Existen varios reportes acerca de la mutagenicidad y genotoxicidad de AOH y AME. Además, el efecto sinérgico de ambos metabolitos ha demostrado ser muy fuerte. El TeA es más tóxico que AOH y AME, estando esta micotoxina asociada con el trastorno hematológico humano, conocido como 'Onyalai' (Andersen *et al.*, 2006; Ostry, 2008).

*Alternaria mali*, también llamada *A. alternata* patotipo manzana (Johnson *et al.*, 2000; Kusaba y Tsuge 1994) o *A. alternata* f. sp. *mali* (Wu *et al.*, 1999; Yoon *et al.*, 1989) también es frecuentemente reportada y asociada con manchas en hojas y frutos de manzana (Dalphy *et al.*, 2014; Gur *et al.*, 2017). Debido a la producción de la HST, este patotipo causa defoliación y caída prematura de frutos en cultivares específicos de manzana. La ocurrencia de *A. mali* ha causado serios problemas en Japón desde 1970 y en los Estados Unidos desde la década de los '80. En Europa, fue reportada en Yugoslavia en 1996 (Rotondo *et al.*, 2012). *A. mali* además tiene la capacidad de producir ALT X I, II, III y TeA. Las Alttoxinas son mutagénicas según el test de Ames, y aún más potentes y agudas a ratón que AOH y AME (Ostry, 2008).

En Pera, las especies de *Alternaria* son uno de los patógenos fúngicos comunes,

Debido a la producción de la HST, este patotipo causa defoliación y caída prematura de frutos en cultivares específicos de manzana

ellas causan defoliación, pudrición y caída de frutos en las plantas hospedadoras (Sun y Zhang, 2008). La mancha negra de la pera japonesa (*Pyrus pyrifolia*) es una importante enfermedad de la pera que se cultiva en Asia.

Desde principios del siglo pasado, esta enfermedad, atribuida a *A. gaisen* Nagano (Simmons, 1993), ha sido frecuente en Japón y Corea a partir de la siembra generalizada del cultivar, particularmente susceptible. No parece haber evidencia de que esta enfermedad se produjera en otro lugar; sin embargo, manchas negras causadas por *A. alternata* ocurrieron en varios cultivares de pera Europea (*Pyrus communis*) en Grecia en 1983, y en 1986, la severidad de la enfermedad que involucró defoliación y daño a los frutos, causó pérdidas en la producción de hasta un 80 % (Dickens y Cook, 1995). En china, de acuerdo con las características morfológicas de los conidios y modelos de esporulación, cuatro grupo de especies fueron asociados a pudrición de frutos de pera (*Pyrus bretschneideri*): *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. yaliinficiens* y *Alternaria sp.* (Sun y Zhang, 2008).

Este estudio pretende determinar las especies de *Alternaria* asociadas a cultivos de manzana y pera en el Alto Valle del río Negro, es el primero de este tipo realizado en la región. Su importancia radica, desde el punto de vista de la fitosanidad de los cultivares locales, en que permite considerar el potencial riesgo a causa de este patógeno, y, desde el punto de vista toxicológico, permite evaluar la posibilidad de producción de diferentes metabolitos secundarios (micotoxinas) en frutos infectados, que pueden alcanzar la cadena productiva y contaminar los productos, generando un problema de salud pública. Futuros estudios serán llevados a cabo, a fin de establecer el potencial fitopatogénico de las especies aisladas, su capacidad micotoxicogénica, como también, a confirmar la identidad de las especies a nivel molecular.

#### Agradecimientos

Al Ing. Agrónomo Sergio Adrian Ziauriz, perteneciente al equipo del INTA Villa Regina, por su acompañamiento y colaboración en el muestreo. A Laura Calfin, por su apoyo Técnico en el proceso de identificación de algunos de los aislamientos.

**Desde principios del siglo pasado, esta enfermedad, atribuida a *A. gaisen* Nagano**

## REFERENCIAS

- Andersen, B., Smedsgaard, J., Jorring, I., Dkouboe, P., y Pedersen, L.H. (2006). Real-time quantification of the AM-toxin gene and HPLC quantification of toxigenic metabolites from *Alternaria* species from apples. *International Journal Food Microbiology*, 111, 105-111.
- Andersen, B., Hansen, M. E., y Smedsgaard, J. (2005). Automated and unbiased image analyses as tools in phenotypic classification of small-spored *Alternaria* spp. *Phytopathology*, 95, 1021.
- Andersen, B., y Frisvad, J. (2004). Natural occurrence of fungi and fungal metabolites in moldy tomatoes. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 52, 7507-1320.
- Andersen, B., Krøger, E., y Roberts, R. G. (2002). Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria* and *A. tenuissima* species-groups. *Mycology Research*, 106, 170-82.
- Andersen, B., Kroger, E., y Roberts, R. G. (2001). Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria* and *A. tenuissima* species-groups. *Mycological research*, 106(2), 170-182.
- Azevedo, S., Mariano, R.L., y Michereff, S.J. (2000). Survey of the intensity of black rot and *Alternaria* leaf spot of cabbage in Agreste of Pernambuco and determination of sample size for disease quantification. *Summa Phytopathology*, 26, 299-306.
- Barkai-Golan, R. (2008). *Alternaria* mycotoxins. En Barkai- Golan R. y Nachman (Eds.), *Mycotoxins in fruits and vegetables*. San Diego; Academic Press.
- Bottalico, A., y Logrieco A. (1992). *Alternaria plant diseases in Mediterranean countries and associated mycotoxin*. Amsterdam: Elsevier.
- Bottalico, A., y Logrieco A. (1998). Toxigenic *Alternaria* species of economic importance. Sinha, K.K. and Bhatnagar In: *Mycotoxins in agriculture and food safety* pp.65-108. New York, NY, USA. Maree Dekker, Inc.
- Delgado T., Gómez-Cordovés C., Scott P.M. 1998. "Determination of alternariol and alternariol monomethyl ether in apple juice using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography". *Journal Chromatography*. 731, 109-114.
- Davis N.D., Diener U.L, and Morgan-Jones G. 1977. "Tenuazonic acid production by *Alternaria alternate* and *Alternaria tenuissima* isolated from cotton". *Applied and Environmental Microbiology*. 34, 155-157.
- Dickens J.S.W., Cook R. T.A. 1995." *Alternaria* pear black spot and apple blotch". *Bulletin OEPP/ EPPO*. 25: 651-659.
- Fehr M., Pahlke G., Fritz J. and Marko D. (2007). " *Alternaria* lactates as a topoisomerase

- poison". Proceedings of the 29th mycotoxin workshop, 14-16 May. (123). Stuttgart-Fellbach, Germany. Gesellschaft für Mycotoxin Forschung (ed.).
- Fernandez Pinto V., Patriarca A. (2017). *Alternaria* species and their Associated Mycotoxin. Antonio Moretti and Antonia Susca (eds.), *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, vol. 1542. Springer Science+Business Media.
- Filtenborg O., Frisvad J. C., Thrane U. (1996). "Moulds in food spoilage." *Internacional Journal of Food Microbiology*. 33 : 85–102.
- Filtenborg O, Frisvad J.C, Samson R.A. (2002). "Specific association of fungi to foods and influence of physical environmental factors." Samson R.A, Hoekstra E.S, Frisvad J.C., Filtenborg O. *Introduction to Food and airborne fungi*. Baarn Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Grabarkiewicz-Szczesna and Chelkowski J. (1992). "Metabolites produce by *Alternaria* species and their natural occurrence in Poland." J. Chelkowski and A. Visconti. *Alternaria Biology, Plant Diseases and Metabolites*. Elsevier, Amsterdam.
- Gur, L., Reuveni, M., & Cohen, Y. (2016). Occurrence and etiology of *Alternaria* leaf blotch and fruit spot of apple caused by *Alternaria alternata* f. sp. mali on cv. Pink lady in Israel. *European Journal of Plant Pathology*, 147(3), 695–708.
- Harteveld D.O.C., Akinsanmi O.A., Drenth A., (2013). "Multiple *Alternaria* species groups are associated with leaf blotch and fruit spot diseases of apple in Australia". *Plant Pathology*. 62: 289-297.
- Horlock C.M.(2006). "Management of *Alternaria* leaf and fruit spot in apples." *Horticulture Australia Limited*. Sydney, Australia. New South Wales.
- Jackson L.S. and Al-Taher F. (2008). "Factors affecting mycotoxin production in fruits." Barkai-Golan R. and Paster N. *Mycotoxins in fruits and vegetables*. San Diego, CA, USA. Elsevier.
- Jones A.L. and Aldwinckle H.S. (1990). "Compendium of apple and pear diseases". APS Press.
- Johnson R.D., Johnson L., Kohmoto K., Otani H., Lane C.R., Kodama M. (2000). "A polymerase chain reaction-based method to specifically detect *Alternaria alternata* apple pathotype (*A. mali*), the causal agent of *Alternaria* blotch of apple". *Phytopathology*. 90: 973-976.
- Kohmoto K., Taniguchi T. and Nishimura S. (1974). "Correlation between the susceptibility of apple cultivars to *Alternaria mali* and their sensitivity to AM-toxin I." *Annals of the Phytopathological Society of Japan*. 43: 65-66

- Kusaba M. and Tsuge T. (1994). "Nuclear ribosomal DNA variation and pathogenic specialization in *Alternaria* fungi known to produce host-specific toxins". *Applied and Environmental Microbiology*. 60:3055–3062.
- Logrieco A., Moretti A., Solfrizzo M. (2009). "Alternaria toxins and plant diseases: An overview of origin, occurrence and risks." *World Mycotoxin Journal*. 2:129–40.18.
- Mislivec P.B, Bruce V.R, Stack M.E, Bandler R. (1987). "Molds and tenuazonic acid in fresh tomatoes used for catsup production." *Journal Food Protection*. 50:38–41.
- Montemurro N. and Visconti A. (1992). "Alternaria metabolites Chemical and biological data". Chelkowski J and Visconti A. *Alternaria: biology, plant diseases and metabolites*. Amsterdam Elsevier Eds.
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O. (1983). *Fusarium species. An illustrated manual for identification*. USA. Pennsylvania State University Press.
- Ostry V. (2008). "Alternaria mycotoxins: An overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs." *World Mycotoxin Journal*. 1: 175–88.24.
- Pitt J.I., and Hocking A.D. (1997). *Fungi and food spoilage*. London. Blackie Academic and Professional.
- Polizzotto R, Andersen B, Martini M, Grisan S, Assante G, Musetti R. (2012). "A polyphasic approach for the characterization of endophytic *Alternaria* strains isolated from grapevines." *Journal Microbiology Methods*. 88:162–71.
- Rotondo F, Collima M., Brunelli A., Pryor B.M. (2012). "Comparison of *Alternaria* sp. Collected in Italy from apple with *A. mali* and other AM-toxin producing strains." *Phytopathology*. 120: 1130-1142.
- Serdani M., Crous P.W., Holz G. and Petrini O. (1998). Endophytic fungi associated with core rot of apples in South Africa, with specific reference to *Alternaria* species. *Sydowia*. 50:257-271.
- Serdani M., Kang J.C., Andersen B. and Crous P.W. (2002). Characterization of *Alternaria* species-groups associated with core rot of apples in South Africa. *Mycological Research*. 106: 561-569.
- Shier, W. T., Abbas, H. K., & Mirocha, C. J. (1991). Toxicity of the mycotoxins fumonisins B1 and B2 and *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* toxin (AAL) in cultured mammalian cells. *Mycopathologia*, 116(2), 97–104.
- Strandberg J.O. (1992). "Alternaria species that attack vegetable crops: Biology and options for disease management." Chelkowski J. and Visconti A. *Alternaria Biology, Plant diseases and Metabolites*. Elsevier. Amsterdam.

- Solfrizzo M., De Girolamo A., Vitti C., Sconti A. and Van den Bulk R. (2004). "Liquid chromatography determination of Alternaria toxins in carrot." *Journal of AOAC International*. 87:101-106.
- Steyn P.S. and Rabie C.J. (1976). "Characterization of magnesium and calcium tenuazonate from *Phoma sorghina*." *Phytochemistry*. 15:1977-1979.
- Schulz B., Boyle C., Draeger S., Römmert A., Krohn K. (2002). "Endophytic fungi: A source of novel biologically active secondary metabolites". *Mycological Research*. 106:996-1004.
- Sun Zhang. (2008). "Morphological and molecular characterization of Alternaria isolates on fruits of *Pyrus bretschneideri* Rehd. Ya Li". *Mycosystema*. 27(1):105-117.
- Terminiello L, Patriarca A, Pose G, Fernández Pinto V. (2006). "Occurrence of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid in Argentinean tomato puree". *Mycotoxin Research*. 22:236-40.
- Thomma B. (2003). "Alternaria sp. From general saprophyte to specific parasite." *Molecular plant pathology*. 4:225-236
- Wollenhaupt K., Schneider F. and Tiemann U. (2008). "Influence of alternariol (AOH) on regulator proteins of cap-dependent translation in porcine endometrial cells." *Toxicology Letters*. 182: 57-62.
- Wu G., Wang Y., Wang P., Wang J., Gong B. (1999). "Study on the differentiation and biological characteristics of *Alternaria alternata* f. sp. Mali". *China Fruits*. 11-15.
- Xu L Du L. (2006). "Direct detection and quantification of Alternaria alternate toxins using high-performance liquid chromatography-evaporative light-scattering detection." *Microbiology Methods*. 64:398-405.
- Yekeler H., Bitrnis K., Özcelik N., Doyrnaz M.Z. and Calta M. (2001). "Analysis of taxi effects of Alternaria toxins on oesophagus of mice by light and electron microscopy." *Toxicologic Pathology*. 29:492-497.
- Yoon J.T., Lee J.T., Park S.D., Park D.O. (1989). "Effects of meteorological factors on the occurrence of Alternaria leaf blotch caused by *Alternaria alternata* f.sp. mali." *Korean Journal Plant Pathology*. 5, 312-316.